

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Geschäftsführender Direktor:
Professor Dr. med. H. G. Lasch

Zur Hämolyse unter dem Einfluß von
Aeszin und EPL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von
Gisela Maubach
aus Posen

Gießen 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546402_0050

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Geschäftsführender Direktor:
Professor Dr. med. H. G. Lasch

Zur Hämolyse unter dem Einfluß von
Aeszin und EPL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von
Gisela Maubach
aus Posen

Gießen 1974



Dekan: Professor Dr. Ringleb
Referent: Professor Dr. Wörner
Correferent: Professor Dr. Lumper

- I. Einleitung
- II. Fragestellung
- III. Vorbemerkungen
 - IIIa. Hämolyse-System
 - IIIb. Wirkung der verwandten Substanzen
- IV. Material
- V. Methode
- VI. Ergebnisse
 - VIa. Aeszinabhängige Hämolyse
 - VIb. Einfluß von Albumin und Serum auf die
aeszinbedingte Hämolyse
 - VIc. Beeinflußbarkeit einer aeszinbedingten
Hämolyse durch EPL-I
 - VIId. Vergleich spezieller EPL-Zubereitungen
hinsichtlich der Hämolyse
 - VIe. Beeinflußbarkeit einer aeszinbedingten
Hämolyse durch EPL und Cholesterin
 - VIIf. Abhängigkeit der experimentellen Hämolyse
von der Erythrozytenkonzentration
- VII. Diskussion
- VIII. Zusammenfassung
- IX. Tabellen
- X. Literatur

Zur Hämolyse unter dem Einfluß von Aeszin und EPL.

I. Einleitung.

Nach mehreren in vitro Versuchen (23,24) machten 1965 verschiedene Autoren auf eine durch aeszinhaltige Präparate in vivo ausgelöste Hämolyse beim Menschen aufmerksam (28). Da die Anwendung aeszinhaltiger Medikamente, sei es in Form von Gesamtauszügen von *Aesculus hippocastanum* L. oder aeszinhaltiger Salze, unter den verschiedenen Indikationen zunimmt, stellte sich uns die Frage, ob unter bestimmten Umständen die hämolytische Potenz des Saponins Aeszin eine Gefährdung für den Patienten bedeutet, und ob die Lyse von Erythrozyten möglicherweise durch sogenannte membranstabilisierende Substanzen, wie z.B. Phospholipide, zu beeinflussen ist, zumal Kombinationspräparate von Aeszin und Phospholipiden seit einiger Zeit vorliegen.

II. Fragestellung.

Im Folgenden wird ein Ansatz beschrieben, der zuläßt, die aeszinbedingte Hämolyse unter verschiedenen Bedingungen zu untersuchen.

Insbesondere soll geprüft werden, ob die aeszinbedingte Hämolyse durch Zusatz von Phospholipiden beeinflusst wird.

III. Vorbemerkungen.

IIIa. Hämolyse-System.

Die Verminderung des Hämoglobinaustritts aus den Erythrozyten wurde als Parameter der Stabilisierung der Membran angesehen. Dies scheint auch heute noch ein bewährtes Testsystem zu sein (14).

Hämolyse ist als eine Schädigung der Erythrozytenmembran aufzufassen, die den Austritt des Hämoglobins nach sich zieht. Entsprechend den Ursachen einer solchen Schädigung können verschiedene Formen der Hämolyse unterschieden werden:

1. Osmotische Hämolyse in hypotonem Milieu.

Hier verursacht Wassereinstrom zunächst eine kugelige Gestalt der Erythrozyten, bis dieser schließlich platzt (17).

2. Bei einer Membranhämolyse tritt eine

unmittelbare Schädigung der Membran ein. Der Mechanismus dieser Schädigung ist unbekannt. Auf diese Weise wirken beispielsweise die komplement-abhängigen Hämolysine, die Saponine, grenzflächen-aktive Stoffe, Fettlösungsmittel und eiweißpräzipitierende Stoffe (2).

3. Rapoport unterscheidet noch eine Stoff-

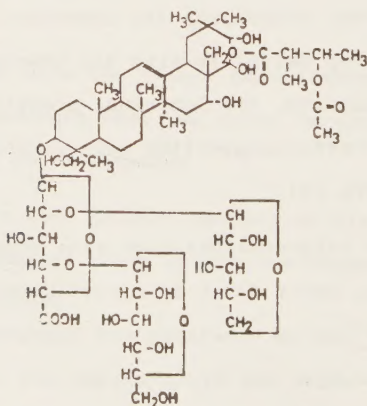
wechselhämolyse. Dabei führt eine noch ungeklärte Abnahme von ATP und Herabsetzung von Glutathion zu Gestaltsänderungen des Erythrozyten und zum Verlust der Fähigkeit, die Form zu ändern (17).

Abgesehen von den auslösenden Faktoren dürfte die Hämolyse in allen Fällen nach gleichem Schema verlaufen. Wie allerdings ist nicht bekannt (15).

IIIb. Wirkung der verwandten Substanzen.

Aeszin, ein Saponin, wird als der wirksame Bestandteil eines komplexen Saponingemisches aus dem Samen von *Aesculus hippocastanum* L. betrachtet. Dabei ist unter Aeszin keine chemisch streng definierte Verbindung zu verstehen, vielmehr handelt es sich um ein Saponingemisch, das durch verschiedene Eigenschaften charakterisiert wird. So sind zum Beispiel α -Aeszin und β -Aeszin von unterschiedlicher hämolytischer Wirksamkeit, während Kryptoaeszin keine solche Wirkung haben soll (26). Welcher Bestandteil in einem Saponingemisch überwiegt, liegt an der Art der Gewinnung.

Das Bauprinzip von Aeszin verdeutlicht die nachstehende Formel (29).

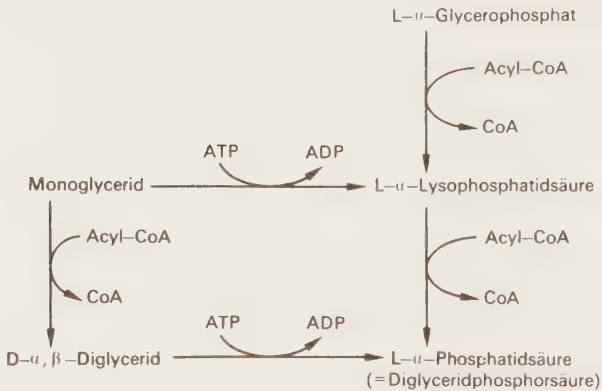


Es handelt sich bei dem Aglykon um ein hochhydroxyliertes Triterpengerüst, das über die OH-Gruppe am C₃ mit einer Zuckerkette verbunden ist.

Daß die therapeutischen Wirkungen von Rosskastanienextrakt, nämlich die Wirkungen auf die Kapillarpermeabilität sowie deren Fragilität und die Entödematisierung von Geweben, auf Aeszin zurückzuführen sind, haben Lorenz und Marek bereits 1960 nachgewiesen (8). Ebenso konnte von mehreren Arbeitsgruppen die Wirksamkeit von Aeszin bei bestimmten Oedemformen im Tierexperiment nachgewiesen werden (16,21, 22,27). Die sogenannte venentonisierende Wirkung von Aeszin wird allgemein abgelehnt. Barbey (1) berichtet über gewisse vasoaktive Wirkungen von Rosskastaniengesamtextrakt. Maubach (9) konnte eine Zunahme der Geschwindigkeit des venösen Rückstroms nach oraler Gabe von Rosskastanienextrakt bei venengesunden Probanden nachweisen.

Aufgrund der Saponinzugehörigkeit von Aeszin kann man hämolytische Eigenschaften der Substanz erwarten. Wörner und andere (28) konnten 1965 über die Bestimmung der LDH-Isoenzyme eine Hämolyse nach parenteraler wie enteraler Aeszingabe nachweisen. Die Autoren konnten den Nachweis führen, daß Aeszin auch nach oraler Gabe resorbiert wird. Die hämolytische Wirkung der Substanz wird von den Autoren als gering bezeichnet.

Phospholipide und Lecithine als Abkömmlinge der Phosphatidsäure kommen als Membranbestandteile ubiquitär vor. Handelt es sich bei den Fettsäureanteilen um mehrfach ungesättigte Fettsäuren, spricht man vom Standpunkt des menschlichen Organismus aus auch von "essentiellen" Phospholipiden. Die Entstehung der Phosphatidsäure, die im Stoffwechsel der Glycerinphosphatide eine wesentliche Rolle spielt, wird aus nachstehendem Schema deutlich (20).

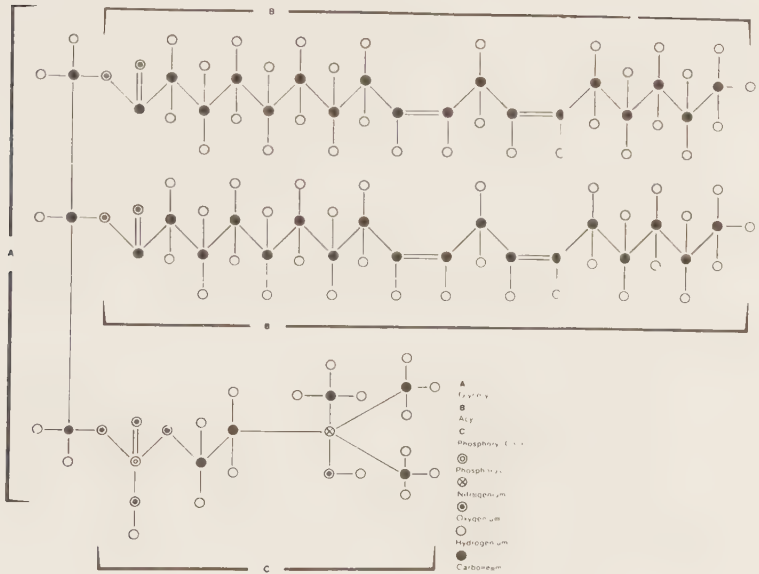


Über eine Dephosphorylierung und anschließende Reaktion mit Cytidindiphosphocholin entsteht beispielsweise Lecithin, dessen Abbau über verschiedene Phospholipasen und andere Enzyme erfolgt. Die Bedeutung des Lecithin für biologische Membranen ist bekannt, seine Rolle für den Elektronentransport bei der oxydativen Phosphorylierung wurde nachgewiesen (11).

Dem Lecithin verwandt in Struktur und Vorkommen ist die Gruppe der Kephaline. Sie findet sich besonders

reichlich in den Markscheiden von Hirn und Rückenmark sowie in Thrombozyten.

Lecithinformel (4):



Wesentliche Eigenschaft des Lecithins ist seine Grenzflächenaktivität aufgrund der hydrophilen und lipophilen Molekülanteile. Damit ist es möglich, Zellen in wässrigem Milieu in ihrer Funktion zu erhalten. Neben Lecithin kommen physiologisch geringe Mengen Lysolecithin vor, das aus ersterem durch Abspaltung einer Fettsäure am C₂ des Glycerins entsteht. Lysolecithin deshalb, weil diese Substanz Zellen, z.B. Erythrozyten, zu lysieren vermag. Möglichkeiten zu seiner Entstehung sind:

1. Die Acyltransferase, die eine Fettsäure von

Lecithin auf Cholesterol überträgt. Das Enzym kommt sowohl im Serum wie in der Wand der Erythrozyten vor (15).

2. Mittels Phospholipasen, Enzyme, die Lecithin weniger spezifisch als Substrat benutzen. Eine Phospholipase B ist ebenfalls in der Erythrozytenmembran nachgewiesen worden (10).

3. Eine sogenannte postheparin Phospholipase (14). Nach Injektion von Heparin konnte eine Lipase nachgewiesen werden, die relativ rasch Lecithin in Lysolecithin umsetzt; dabei findet die entsprechende Reaktion am C_1 des Glycerins statt.

Eine Bindung des Lysolecithin an Proteine im Plasma, im besonderen Albumin, wird von Piper diskutiert (12), der diese Tatsache unter anderem für ein Ausbleiben der lytischen Eigenschaften von Lysolecithin in entsprechenden Versuchsanordnungen verantwortlich macht.

Die Bedeutung von Phospholipiden für die Membran, insbesondere die Erythrozytenmembran, ist neben ihren Bausteineigenschaften noch nicht geklärt. So enthalten die Membranen von Erythrozyten neben Phosphatiden noch Mucopolysaccharide und Proteine (17).

Die einzelnen Fraktionen des Gesamtlipids können im Ghost gewonnen und aufgeschlüsselt werden (3). Man findet da ein Cholesterin/Phospholipidverhältnis von 0,5 : 0,9. Das Phospholipid setzt sich im wesent-

lichen aus Phosphatidylcholin, Phosphatidyläthanolamin, Phosphatidylserin und Sphingomyelin zusammen; daneben finden sich geringe Mengen Phosphatidsäure, Phosphatidylinosit und Lysolecithin (13).

Die Untersuchungen über die Resorption zugeführter Phospholipide ergaben, daß diese sich nach einem gewissen Muster verteilen (25). Nach parenteraler Gabe soll der größte Teil sehr schnell von der Leber aufgenommen werden. Ein wesentlich geringerer Teil gelangt in das Fettgewebe und die Erythrozyten.

Verschiedene Untersucher (18) konnten im Tierversuch nachweisen, daß Lecithin nach oraler Gabe nicht als intaktes Molekül resorbiert wird, wohl aber Lysolecithin, das anschließend rückverestert wird, um dann in Chylomikronen über den Lymphstrom in den Kreislauf zu gelangen. Wagener (25) konnte nach oraler Gabe von radioaktiv markiertem Lecithin (Tritium) im Plasma ebendiese radioaktive Substanz wiederfinden, sei es nun infolge ungespaltener Resorption oder Rückveresterung.

Die klinische Bedeutung "essentieller" Phospholipide ist nach wie vor umstritten.

IV. Material.

1. Erythrozyten.

Frisches Citratvenenblut gesunder Spender wurde dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung bei 3200 Umdrehungen gewaschen und eine Erythrozytenausgangslösung mit einem Hämatokrit (HK) von 20 % hergestellt. Diese wurde sofort weiter verwendet und durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung sowie den Reagentien in einem 5 ml Ansatz auf einen HK von 8 % eingestellt.

2. Serum.

Für die entsprechenden Versuchsreihen wurde autologes Serum gesondert entnommen.

3. Aeszin.

Als Aeszin benutzten wir Nativaeszin, das nach Angaben des Herstellers^{*} vorwiegend β -Aeszin enthielt.

4. Phosphatidylcholin.

Als Phosphatidylcholin diente eine 10 %ige Lösung von Cholinphosphorsäure natürlicher Herkunft mit überwiegend ungesättigten Fettsäuren, speziell Linolsäure (70 %), Linolensäure und Ölsäure in zwei Zubereitungen:

a) "Essentielles" Phospholipid-I:^{*}

reines, klar in Wasser gelöstes Phospholipid, mit Ultraschall behandelt und einer Molekülgröße von ca. 150 Å.

b) "Essentielles" Phospholipid-II:^{*}

wässrige, nicht klare Suspension reinen Phospho-

lipids.

In beiden Zubereitungen betrug der Lysolecithingehalt nach Angabe des Herstellers 2 bis 5 %.

V. Methode.

Der folgende Versuchsablauf war für alle Untersuchungen gleich:

Zu 2 ml einer Suspension von gewaschenen Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung mit einem HK von 20 % wurden in entsprechenden Ansätzen Serum oder Albumin, sowie die zu prüfende Substanz gegeben und auf 5 ml durch physiologische Kochsalzlösung aufgefüllt, so daß der 5 ml Ansatz auf einen HK von 8 % eingestellt war. Vor der Inkubation, in deren Verlauf es zur Hemolyse kam, wurden von allen Versuchs- und nachstehend beschriebenen Kontrollansätzen Proben entnommen und das Gesamthämoglobin bestimmt. Die dabei gefundenen Werte wurden gleich 100 % gesetzt.

Der Kontrollansatz enthält im einfachsten Fall 2 ml Erythrozytenausgangslösung und physiologische Kochsalzlösung ad 5 ml, bei den entsprechenden Versuchen zusätzlich Albumin oder Serum.

* Die Substanzen wurden von der Firma Rattmann zur Verfügung gestellt.

Nach Zufügen der hämolysierenden Substanz wurde bei 37 °C inkubiert. Die Inkubation der Ansätze wurde zu verschiedenen Zeiten durch fünfminütigen Aufenthalt im Eisbad unterbrochen, anschließend zentrifugiert und im Überstand sofort das Hämoglobin bestimmt.

Die Hämoglobinbestimmung erfolgte photometrisch im Zeiss Spektralphotometer PMQ II nach der Methode von Evelyn und Malloy (5), die gering modifiziert werden mußte und zwar in folgender Weise:

0,1 ml des überstehenden Hämolysates wurden zu 9,9 ml einer 0,015 m hypotonen Phosphatpufferlösung (KH_2PO_4 , pH 6,6) gegeben, den Hämoglobinlösungen je 1 Tropfen 20 %ige $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ - und 1 Tropfen 10 %ige NaCN-Lösung hinzugefügt und die Extinktion bei 540 nm in Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke spektralphotometrisch gemessen. Als Leerwert wurden 10 ml 0,015 m Phosphatpuffer, versetzt mit 1 Tropfen 20 %ige $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ - und 1 Tropfen 10 %ige NaCN-Lösung verwendet.

Der Grad der Hämolyse wurde durch Vergleich der Extinktion des hämoglobinhaltigen Überstandes nach Inkubation mit der Extinktion der vorher entnommenen Probe und des als 100 % gesetzten Hämolysewertes ausgedrückt.

Um osmotische Hämolysen auszuschließen, wurden jeweils vor der Inkubation Osmolarität und pH gemessen.

VI. Ergebnisse.

VIa. Aeszinabhängige Hämolyse.

Zu dem beschriebenen Ansatz wurde eine Lösung β -Aeszin zugesetzt, so daß folgende Konzentrationen erreicht wurden: 0,04, 0,08, 0,16 und 0,32 mg Aeszin/Ansatz (Tab. 1). Zur besseren Reproduzierbarkeit der Hämolyse bei den gewählten Bedingungen erwiesen sich die Aeszin-konzentrationen von 0,16 und 0,32 mg/Ansatz als geeignet (Abb. 1). Die folgenden Versuche wurden mit Konzentrationen im angegebenen Bereich durchgeführt.

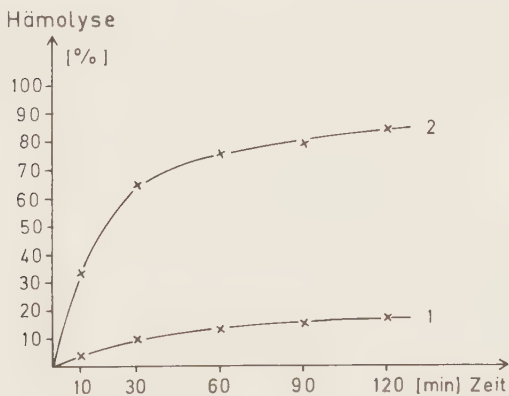


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf der Hämolyse bei Aeszin-konzentrationen von 0,16 und 0,32 mg/Ansatz über eine Inkubationszeit von 2 Stunden.

Bei Zusatz von 0,16 mg Aeszin/Ansatz stieg innerhalb von 2 Stunden das Ausmaß der Hämolyse nahezu linear bis zu einem Maximalwert von 16,8 % Hämolyse. Der

Ansatz mit 0,32 mg Aeszin zeigte einen steileren Anstieg im vorderen Bereich und erreichte bereits nach 30 Minuten eine Hämolyse von 63,5 %, die im Verlauf von weiteren 90 Minuten nur mehr auf 84 % anstieg.

Die folgenden Untersuchungen wurden bei Aeszinkonzentrationen durchgeführt, die zwischen den beschriebenen Konzentrationen von 0,16 und 0,32 mg/Ansatz lagen. Als Intervall wurden für die Konzentrationskurven 0,04 mg Aeszin/Ansatz gewählt. Der Versuch wurde dreimal mit Blut verschiedener Spender durchgeführt (Tab. 2,3,4). Ein typisches Beispiel ist in Abb. 2 gegeben.

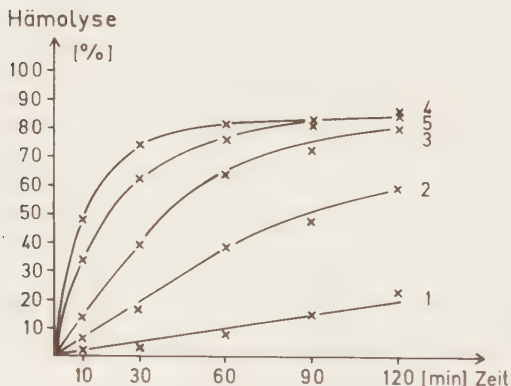


Abb. 2: Konzentrationsabhängigkeit und zeitlicher Verlauf der Hämolyse nach 10, 30, 60, 90 und 120 minütiger Inkubation bei 37°C.

- 1 = 0,16 mg Aeszin/Ansatz
- 2 = 0,20 mg " "
- 3 = 0,24 mg " "
- 4 = 0,28 mg " "
- 5 = 0,32 mg " "

Auch schon aus Abb. 1 ist zu ersehen, daß der Grad der Hämolyse sowohl mit steigenden Aeszinkkonzentrationen als auch mit der Inkubationszeit zunahm, wobei die Zeitabhängigkeit nur bis zu einer Hämolyse von $\leq 50\%$ nahezu linear erfolgte. Die Kurven 1 bis 3 zeigen eine stetige Zunahme der Hämolyse über mehr als 60 Minuten.

Bei Verwendung der 1 Stunden-werte der soeben beschriebenen Kurven entsteht Abb. 3. Sie zeigt, daß bei 1-stündiger Inkubation eine weitgehend lineare Konzentrationsabhängigkeit nur bei Aeszinkkonzentrationen von 0,16 bis 0,24 mg/Ansatz besteht. Diese lineare Konzentrationsabhängigkeit ist aber in den nächsten Versuchen erforderlichlich, um die Wirkung der zu prüfenden Substanz und den Einfluß von Serumbestandteilen beurteilen zu können.

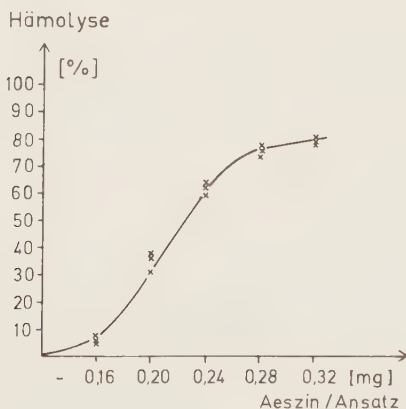


Abb. 3: Hämolyse nach 1-stündiger Inkubation in Abhängigkeit von der Aeszinkkonzentration.

Vib. Einfluß von Serum und Albumin auf die aeszinbedingte Hämolyse.

Zunächst wurden Versuche durchgeführt, um zu ermitteln, welche Serumfaktoren mit der aeszinbedingten Hämolyse interferieren. Dazu wurde der Einfluß von Serum- und Albuminzusatz untersucht. Die oben gefundenen Aeszin-konzentrationen von 0,16 bis 0,32 mg/Ansatz bewirkten nach Zusatz von 0,5 ml Serum zu 2,0 ml gewaschener Erythrozyten keine meßbare Hämolyse (Tab. 5,6,7). Erst eine Aeszinkonzentration von 1,0 mg/Ansatz vermochte eine geringgradige Hämolyse auszulösen (Tab.7,₆), die durch stufenweise Verminderung der Serumkomponente von 0,5 auf 0,2 ml erheblich gesteigert werden konnte und eine Abhängigkeit vom Serumzusatz erkennen ließ (Tab. 8). In den Röhrchen mit 0,3 und 0,2 ml Serum betrug die Hämolyse 43,4 % bzw. 74,6 %.

Die zu einer gleich starken Hämolyse benötigten Aeszinkonzentrationen lagen bei Anwesenheit von 0,3 ml Serum mit 0,6 bis 2,0 mg Aeszin/Ansatz (Tab. 9,10,11) wesentlich höher als in den serumfreien Versuchen, wobei die Aeszinkonzentration von 1,0 mg/Ansatz in der graphischen Darstellung dreier Versuche im linearen Anteil der Hämolysekurve zu finden war (Abb. 4). Da unter Serumeinfluß sich die Hämolyse bereits nach 30 Minuten einem Maximum näherte (vergl. Abb. 7), wurde die Messung nach dieser Inkubationszeit vorgenommen.

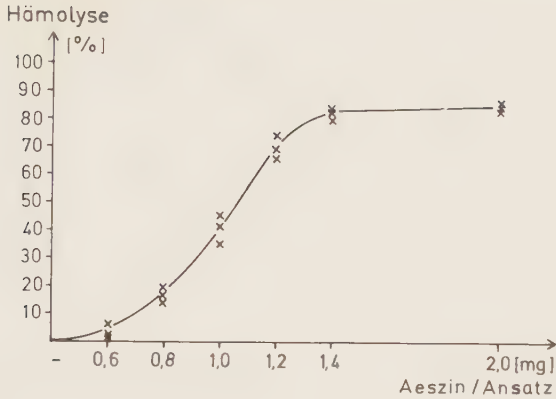


Abb. 4: Hämolysengrade bei Versuchen mit 0,3 ml Serum/Ansatz und aufsteigenden Aescinkonzentrationen von 0,6 bis 2,0 mg/Ansatz. Konzentrationsintervall 0,2 mg Aescin/Ansatz. Inkubationszeit 30 Minuten.

Die Erhöhung des Serumgehaltes im Ansatz führte wie oben erwähnt zu einem erheblichen Mehrbedarf an Aescin (Tab. 12 - 18). Aus der Abb. 5a ersieht man eine deutlich gesteigerte Resistenz der Erythrozyten gegenüber der aescinbedingten Hämolysen bei steigendem Serumzusatz.

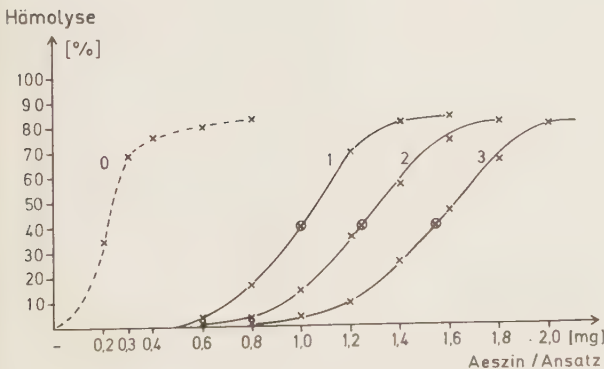


Abb. 5a:
Hämolysenkurven konstanter Serum-mengen in Abhängigkeit aufsteigender Aescin-konzentrationen.

0 = serumfreie Kontrolle
1 = 0,3 ml Serum/Ansatz
2 = 0,4 ml " "
3 = 0,5 ml " "

Im Folgenden wurde der Frage nachgegangen, ob die erhöhte Resistenz im serumhaltigen Milieu durch eine Eiweißbindung des Aeszins an Albumin allein bedingt sei. Daher wurden Parallelansätze mit einem Zusatz von 4 g pro 100 ml Humanalbumin anstelle von Serum durchgeführt (Tab. 19 - 31). Die Konzentration des Albumins entspricht einem hochnormalen Albumingehalt von Serum.

Die analog Abb. 5a gewonnenen Kurven der Abb. 5b zeigen den sehr viel höheren Bedarf an Albumin, um eine ähnlich starke Hemmung der aeszinbedingten Hämolyse zu erreichen. Zum Beispiel wird eine halbmaximale Hämolyse (vereinfacht wurde der Wert von 40 % Hämolyse zur Ermittlung der Aeszinkonzentration gewählt) nach Zusatz von 0,02 g Albumin/Ansatz bei 0,47 mg Aeszin/Ansatz erreicht, während eine dieser Albuminkonzentration entsprechende Serummenge (0,5 ml) für eine 40 %-Hämolyse 1,55 mg Aeszin/Ansatz benötigte.

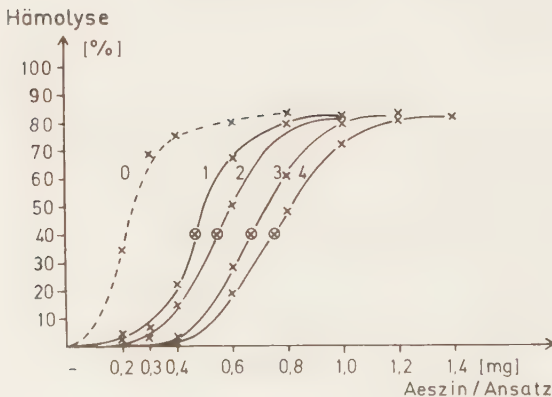


Abb. 5b:

Hämolysekurven konstanter Albuminkonzentrationen in Abhängigkeit aufsteigender Aeszinkonzentrationen. Gemessen nach 30-minütiger Inkubation.

0 = ohne Zusatz von Albumin
1 = 0,02g Albumin/Ansatz
2 = 0,04 g " "
3 = 0,06 g " "
4 = 0,08 g " "

Vic. Beeinflußbarkeit einer Aeszinbedingten Hämolyse durch EPL-I.

Der Zusatz von EPL-I bewirkte in dem oben angegebenen serum- und albuminfreien Ansatz eine Hämolyse, bevor Aeszin zugefügt wurde. Der Grad der Hämolyse bewegte sich zwischen 57,6 und 76,0 % bei den gewählten EPL-Konzentrationen von 5,0 mg bis 20,0 mg/Ansatz nach 30-minütiger Inkubation bei 37 °C (Tab. 32). Kontrollansätze wiesen keine Hämolyse auf.

Allein durch Zugabe von autologem Serum konnte die EPL-bedingte Hämolyse beseitigt werden.

Die Serumkomponente wurde wie in den vorhergehenden Versuchen mit 0,3 ml/Ansatz konstant gehalten, die EPL-I-Konzentration von 0,05 auf 150 mg/Ansatz gesteigert. Die Aeszinkonzentration betrug wie oben ermittelt (vergl. Abb. 4) 1,0 mg/Ansatz (Tab. 33-35).

Wie die Abbildung der drei Versuche zeigt (Abb. 6), nahm das Ausmaß der Hämolyse gegenüber dem EPL-freien Ansatz von etwa 25 % mit steigenden EPL-Konzentrationen zu, erreichte bei ungefähr 2,0 mg EPL/Ansatz ein Maximum von 80 %, das bis zu einer Konzentration von 10,0 mg/Ansatz bestehen blieb. Mit weiter zunehmenden EPL-Konzentrationen nahm die Hämolyse wieder ab und war schließlich bei 150 mg/Ansatz nicht mehr nachweisbar.

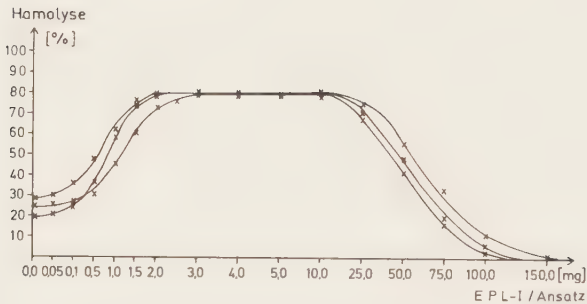


Abb. 6: Hämolyse in Abhängigkeit von 0,05 auf 150 mg/Ansatz ansteigenden EPL-Konzentrationen. Serum und Aescin sind mit 0,3 ml bzw. 1,0 mg/Ansatz konstant gehalten. Inkubationszeit 30 Minuten.

VI d. Vergleich spezieller EPL-Zubereitungen hinsichtlich der Hämolyse.

In den folgenden Versuchen wurden spezielle EPL-Zubereitungen auf die aescinbedingte Hämolyse geprüft. Hierzu wurden zunächst EPL-I und EPL-II bezüglich der Hämolyse verglichen in einem Ansatz aus 5,0 mg EPL pro Ansatz, 1,0 mg Aescin/Ansatz, Erythrozyten und verschiedenen Serumkonzentrationen.

Der pH-Wert der EPL-freien Kontrollen lag zwischen pH 7,65 und pH 7,75, der pH-Wert in den phospholipidhaltigen Röhrchen war mit pH 7,7 konstant (Tab. 36). Ein ähnlich geringfügiger Unterschied trat in den

Meßwerten der Osmolaritäten auf. Die der EPL-haltigen Versuche wiesen mit 290 mosm keine Abweichung auf, die der phospholipidfreien Ansätze schwankten zwischen 286 und 290 mosm (Tab. 36).

Im Gegensatz zum Verhalten im serumfreien Ansatz trat während der 2-stündigen Inkubation der serumhaltigen Ansätze keine Hämolyse bei Zusatz von EPL-I oder EPL-II ein. Erst nach Zufügen von Aeszin wurde Hämoglobin freigesetzt. Die Hämolyse wurde nach 10, 20 und 30 Minuten gemessen.

Die Ergebnisse der Versuche mit EPL-I (Tab. 37/37x - 42/42x) zeigt Abb. 7

Es ist zu erkennen, daß mit EPL-I-Zusatz die maximale Hämolyse schon nach 10 Minuten eingetreten war. Eine Abhängigkeit von der Menge des Serumanteiles war unter den gewählten Bedingungen nicht ersichtlich im Gegensatz zu den phospholipidfreien Kontrollen, in denen zum einen die Hämolyse mit steigender Serumkomponente deutlich abnahm, zum anderen mit der Inkubationszeit gering zunahm und erst nach 30 Minuten etwas mehr als 50 % erreichte. Die größte Differenz hinsichtlich der Hämolyse ließ sich bei Verwendung der höchsten Serumkonzentration im Ansatz ablesen.

Hämolyse

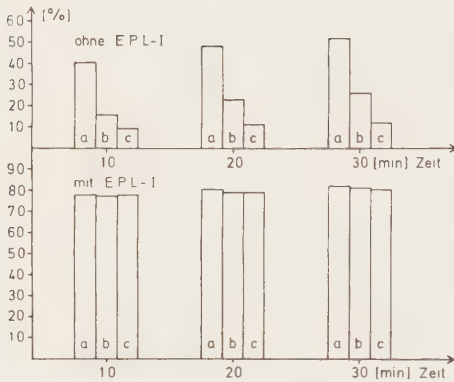


Abb. 7:

Nach 10, 20 und 30 Minuten gemessene Hämolyse des phospholipidfreien und des EPL-I-haltigen Ansatzes. Die EPL-I-Konzentration betrug 5,0 mg/Ansatz, die Aeszinkkonzentration 1,0 mg pro Ansatz; a, b und c symbolisieren die Röhrchen mit 0,3, 0,35 und 0,4 ml Serum/Ansatz.

Bei gleichen Ansatzbedingungen ergaben die Mittelwerte (Tab. 48/48x) von 5 Ansätzen mit EPL-II im Gegensatz zu EPL-I nach 10, 20 und 30-minütiger Inkubation keine maximale Hämolyse (Tab. 43/43x - 47/47x). Es stellte sich aufgrund der geringeren Hämolyse auch für die EPL-II-haltigen Ansätze eine Zeitabhängigkeit dar. Gleichzeitig war das Ausmaß der Hämolyse wiederum abhängig vom Serumzusatz (Abb. 8).

Hämolyse

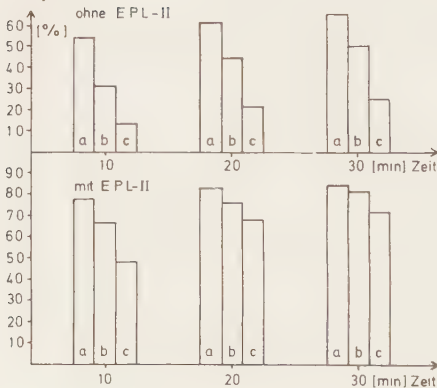


Abb. 8:

Nach 10, 20 und 30 Minuten gemessene Hämolyse des phospholipidfreien und des EPL-II-haltigen Ansatzes. Bedingungen wie bei Abb. 7.

wählte man im Vergleich zum vorgenannten Ansatz eine geringere EPL-I-Konzentration von 1,0 mg/Ansatz, so war die Serumabhängigkeit auch hier deutlich (vergl. Abb. 6), weil die Hämolyse unter diesen Bedingungen in nahezu linearen Bereich um 40 % der Hämolysekurve $\log$ (Tab. 49/49x/49xx - 51/51x/51xx).

In Abbildung 9a wird der Anstieg der aezinbedingten Hämolyse durch EPL-I dargestellt. Dieser Anstieg ist für die verschiedenen Serumkonzentrationen nur geringfügig zeitabhängig, was als Hinweis dafür gelten könnte, daß eine weitere Interaktion als die bekannte Verminderung der aezinbedingten Hämolyse nicht auftritt. Diese Annahme wird gestützt durch Abb. 9b, die zeigt, daß keine signifikante Differenz vorliegt zwischen dem Ausmaß der Hämolyse bei Verwendung von bei 56 °C über 30 Minuten inaktiviertem Serum und dem Ausmaß der Hämolyse in Ansätzen, die frisches Serum enthalten.

Die Ergebnisse sprechen gegen die Annahme, daß ein direkter Einfluß eines Serumbestandteiles, unter anderem auch der Acyltransferase auf die Hämolyse besteht. Dies erscheint wichtig, da auszuschließen war, daß die Acyltransferase aus EPL-Bestandteilen Lysolecithin freisetzt.

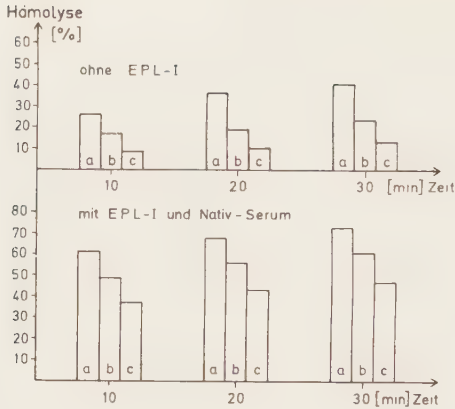


Abb. 9a: Kontrollansatz ohne EPL-I und Hämolysegrade des EPL-I-haltigen Ansatzes mit konstant 1,0 mg EPL-I/Ansatz. Aeszinkkonzentration 1,0 mg pro Ansatz, Serumkonzentration aufsteigend (Nativserum).

a = 0,30 ml Serum/Ansatz
 b = 0,35 ml " "
 c = 0,40 ml " "

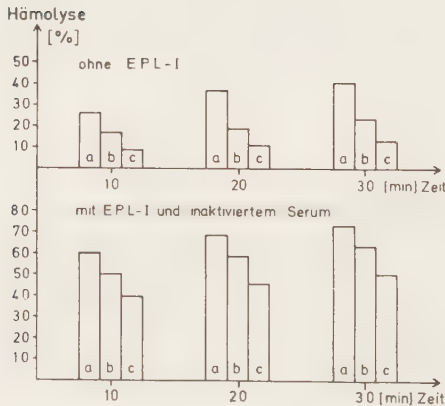


Abb. 9b: Serum 30 Minuten bei 56 °C inaktiviert; ansonsten Bedingungen wie in Abb. 9a.

Vie. Beeinflußbarkeit einer aszinbedingten Hämolyse durch EPL und Cholesterin.

Um die stärkere Hemmung der aszinbedingten Hämolyse durch Serum weiter zu untersuchen, gingen wir der Frage nach, ob neben Albumin Cholesterin die Hämolyse zu beeinflussen vermag.

Hierzu wurde eine kombinierte Lösung mit 10,0 mg/ml EPL-I und 2,5 mg/ml Cholesterin verwendet, deren Menge mit 0,5 ml/Ansatz konstant gewählt wurde. Sie entsprach einer Phospholipidkonzentration von 5,0 mg/Ansatz und einer Cholesterinkonzentration von 1,25 mg/Ansatz. Die Serumkomponente wurde verändert (Tab. 52/52x - 56/56x).

Der Cholesteringehalt im Serum fünf gesunder Spender betrug durchschnittlich 160 mg/100 ml (160, 164, 158, 154 und 165 mg/100 ml, mit dem Autoanalyser bestimmt).

Der pH-Wert dieses Ansatzes lag zwischen pH 7,65 und pH 7,7, die Osmolarität zwischen 260 und 265 mosm (Tab. 58/58x).

Wie dem gemittelten Ergebnis zu entnehmen ist (Tab. 57/57x), genügte eine so geringe Cholesterinmenge wie die vorliegende, um den Ablauf der Hämolyse entscheidend zu beeinflussen (Abb. 10).

Wir danken Herrn Prof. Róka für die Überlassung der Befunde.

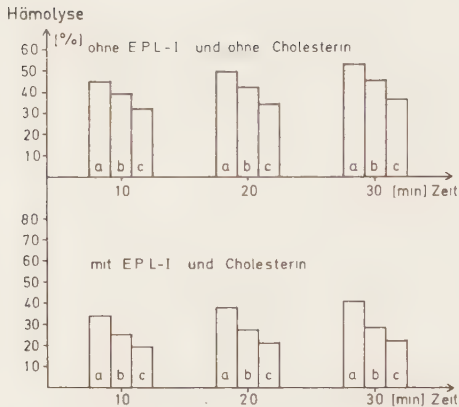


Abb. 10: Die Abbildung zeigt die nach 10, 20 und 30 Minuten gemessenen Hämolyse. Die Versuchsansätze enthielten einen konstanten Zusatz von 5,0 mg EPL-I/Ansatz und 1,25 mg Cholesterin pro Ansatz. Die Aeszinkonzentration betrug 1,0 mg/Ansatz; a, b und c symbolisieren die Ansätze mit 0,3, 0,35 und 0,4 ml Serum/Ansatz.

Im Gegensatz zu den bisherigen Ergebnissen phospholipidhaltiger Ansätze, die bei Aeszinzusatz in ihrem Hämolysegrad stets signifikant über denjenigen der EPL-freien Kontrollen lagen, beobachteten wir unter gleichzeitiger Cholesterineinwirkung eine deutliche Verringerung der Hämolyse. Zudem konnte eine Serumabhängigkeit festgestellt werden.

VIf. Abhängigkeit der experimentellen Hämolyse von der Erythrozytenkonzentration.

Neben der Abhängigkeit des Hämolysegrades von der Aeszinkonzentration, der EPL-Konzentration und des Serumanteiles konnte auch bei steigender Erythrozytenkonzentration von 0,3 auf 1,5 ml/Ansatz eine Abnahme der Hämolyse sowohl in den EPL-freien Kontrollen als auch im Versuchsansatz festgestellt werden. Serum wurde mit 0,3 ml/Ansatz, EPL-I mit 1,0 mg/Ansatz und Aeszin mit 1,0 mg/Ansatz konstant gehalten (Tab. 59/59x bis 61/61x).

Die Hämatokritwerte lagen zwischen 5 % (0,3 ml Erythrozyten) und 25 % (1,5 ml Erythrozyten) (Tab. 62).

Während sich die Hämolyse bei einem Hämatokrit von 5 % in den EPL-haltigen Ansätzen auf 80 % belief, wies sie für die EPL-freien Kontrollen einen Wert von rund 50 % auf. Die Differenz verringerte sich im weiteren Verlauf der Kurven und betrug bei einem Hämatokrit von 25 % nur noch etwa 10 % (Abb. 11). Daraus kann unter anderem gefolgert werden, daß neben dem oben beschriebenen Einfluß von Serum, Albumin und Cholesterin eine Abhängigkeit von der verwendeten Erythrozytenkonzentration besteht.

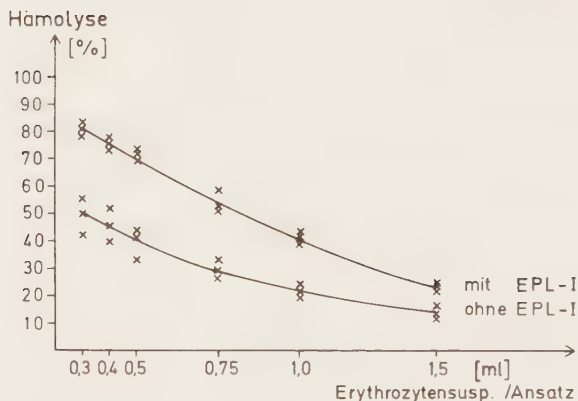


Abb. 11: Hämolysen bei von 0,3 ml auf 1,5 ml/Ansatz ansteigender Erythrozytenkomponente. Serum 0,3 ml/Ansatz; EPL-I 1,0 mg/Ansatz; Aeszin 1,0 mg/Ansatz. Inkubationszeit 30 Minuten bei 37 °C.

Ergänzend sollte der Einfluß der zeitlichen Reihenfolge von Aeszin- und EPL-Zugabe untersucht werden.

Hierzu wurde einmal EPL-I und Aeszin gleichzeitig, zum anderen zunächst Aeszin und nach 2-stündiger Inkubation EPL-I dem jeweiligen Ansatz zugefügt. Serum und Aeszin wurden mit 0,3 ml bzw. 1,0 mg/Ansatz konstant vorgelegt, die EPL-I-Konzentration anhand der Hämolysenkurve (s. Abb. 6) mit 0,5, 5,0 und 50,0 mg pro Ansatz variiert (Tab. 63/63x - 65/65x).

Aus Abb. 12 geht hervor, daß bei gleichzeitigem Zusatz

von EPL-I und Aeszin nach 2-stündiger Inkubation das Ausmaß der Hämolyse keinen Unterschied gegenüber dem Kurvenverlauf der drei entsprechenden EPL-Konzentrationen in Abb. 6 erkennbar ist.

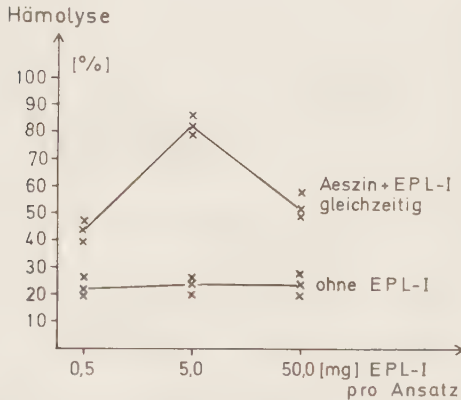


Abb. 12: Hämolysegrade bei gleichzeitiger Inkubation von Aeszin und EPL-I.
EPL-I: 0,5, 5,0 und 50,0 mg/Ansatz;
Aeszin: 1,0 mg/Ansatz; Serum: 0,3 ml/Ansatz.
Inkubationszeit 2 Stunden bei 37 °C.

Während die Hämolyse des Röhrchens mit 0,5 ml EPL-I pro Ansatz geringgradig über den EPL-freien Kontrollwert lag, nahm sie analog vorangegangener Versuche in Anwesenheit von 5,0 mg EPL-I/Ansatz auf über 80 % zu und fiel mit steigendem EPL-Gehalt wieder gegen 50 %, lag aber bei 50,0 mg EPL-I/Ansatz noch deutlich über der EPL-freien Kontrolle.

Entsprechende Verhältnisse ergaben sich, wenn die EPL-Zugabe nach 2-stündiger Inkubation des aeszin-haltigen Ansatzes erfolgte (Tab. 66/66x - 68/68x).

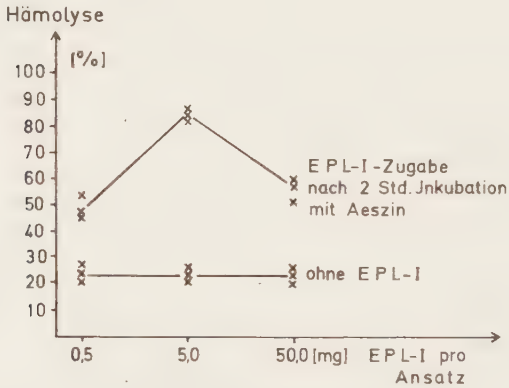


Abb. 13: Hämolyse bei EPL-I-Zugabe nach 2-stündiger Inkubation mit Aeszin.
EPL-I: 0,5, 5,0 und 50,0 mg/Ansatz;
Aeszin: 1,0 mg/Ansatz; Serum: 0,3 ml/Ansatz.

VII. Diskussion.

Aeszin, seit einigen Jahren in die Therapie eingeführt, zählt zur Gruppe der Saponine, deren hämolytische Eigenschaften erstmals von K o b e r t (7) um die Jahrhundertwende in ausführlichen Untersuchungen publiziert wurden. Während zum Beispiel Digitonin ein stark hämolysierendes Saponin darstellt, ist Aeszin ein Vertreter der schwach hämolysierenden Saponine, dessen hämolytische Aktivität aufgrund von in vitro Untersuchungen seit 1960 bekannt ist (8). Wir konnten diesen Befund bestätigen und fanden, daß bis zu einer gewissen Aeszinkonzentration eine lineare Beziehung zwischen dieser und dem Hämolyseausmaß besteht. Gleiches trifft zu für die Zeitabhängigkeit der Hämolyse.

Für die deutlich höheren Aeszinkonzentrationen, die zur Auslösung der Hämolyse nach Zusatz von Albumin zum Ansatz benötigt werden, ist ein Aeszinalbuminat als Ursache anzunehmen (24).

Aufgrund einer weiteren Zunahme des Aeszinbedarfs bei Serumzusatz konnte in einer folgenden Versuchsreihe eine zusätzliche Bindung des Aeszins an Cholesterin nachgewiesen werden.

Auch konnte gezeigt werden, daß das Ausmaß der Hämolysehemmung von der Albumin- und Serumkonzentration abhängt. Je höher die Albumin- bzw. Serumkonzentration,

desto geringer die Hämolyse. Sowohl die Bildung von Aeszinalbuminat als auch die Bindung von Aeszin an Cholesterin sind zumindest wesentliche Ursache dafür, daß nach parenteraler Gabe von Aeszinverbindungen eine Hämolyse klinisch nicht erfaßt wird (28).

EPL und gewaschene Erythrozyten zeigten in unserer Versuchsanordnung eine erhebliche Hämolyse. Ein Ergebnis, das auch von K i e s e (6) beschrieben und auf eine Oberflächenaktivität des EPL zurückgeführt wird. Ursache dürfte jedoch das in der EPL-Lösung enthaltene Lysolecithin (ca. 3 bis 5 %) sein, dessen hämolytische Fähigkeit der Namensgebung zugrunde gelegt wurde. Lysolecithin ist im übrigen in geringem Prozentsatz Bestandteil des Blutes, ohne daß es hier eine Hämolyse hervorruft. Das erklärt auch, warum die Zugabe von Serum die lysolecithinbedingte Hämolyse sofort beseitigt. Aus diesem Grunde sind auch mögliche hämolytische Nebenwirkungen bei intravenöser Gabe von EPL allein zu vernachlässigen. Nicht hingegen diejenigen bei gleichzeitiger Medikation von Aeszinpräparaten, durch die, wie unsere Versuche unter bestimmten Bedingungen zeigen, eine deutliche Steigerung der Hämolyse erfolgt.

Gegen die Annahme, daß die gesteigerte Hämolyse durch einen direkten Einfluß von Serumbestandteilen, unter anderem der Acyltransferase, auf die Hämolyse zurückzuführen sei, sprechen die Ergebnisse mit inaktivier-

tem Serum, die in ihrem Hämolyseausmaß keine signifikante Differenz gegenüber frischem Serum aufwiesen. Es müssen also andere Faktoren für die Hämolysezunahme verantwortlich sein, zumal das von Piper (12) beschriebene Lysolecithin, das über den Lecithin - Cholesterol - Acyltransferase - Mechanismus gebildet werden soll, erst bei Konzentrationen von 90 mg/100 ml die Gestalt der Erythrozyten so verändert, daß dadurch eine Hämolyse resultiert. Derartige Lysolecithinkonzentrationen konnten jedoch mit den in unseren Versuchen verwendeten EPL-Konzentrationen, die zu einer gesteigerten Hämolyse führten, nicht erzielt werden. Diese Befunde werden unterstützt durch Arbeiten von Munder et al. (10) und Seeman (19), die für niedrige Lysolecithinkonzentrationen eine stabilisierende Wirkung an der Erythrozytenmembran nachweisen konnten, welche zurückzuführen ist auf eine membran-gebundene acyltransferaseabhängige Umwandlung von Lysolecithin zu Lecithin.

Eine Möglichkeit die gesteigerte Hämolyse zu interpretieren, bietet sich an durch eine Bindung des EPL an Serumprotein, durch die die Eiweißkomponente des Ansatzes vermindert wird, so daß weniger Aeszin als inaktives Aeszinalbuminat vorliegt und mehr freies, hämolytisch aktives Aeszin zur Verfügung steht. Für diese Annahme sprechen auch die Ergebnisse der Abb. 13, die nach 2-stündiger Inkubation mit Aeszin und anschließendem Zusatz von EPL entsprechend dem

umgekehrten Vorgehen eine ebensolche Hämolysesteigerung erkennen lassen, so daß für diesen Befund eine Verdrängung des Aeszins durch EPL verantwortlich gemacht werden könnte. Diese Hämolysezunahme erfolgt allerdings nur bis zu einer bestimmten EPL-Konzentration. Beträgt sie nämlich mehr als 5,0 mg/Ansatz (s. Abb. 6), nimmt die Hämolyse wieder ab, wobei es sich möglicherweise um die Bildung eines unlöslichen Komplexes zwischen dem freien Aeszin und dem überschüssigen EPL handelt (30).

Zuletzt könnte die Hypothese aufgestellt werden, daß die durch das Saponin Aeszin verletzte Erythrozytenmembran im Milieu mit wenig EPL nur unzureichend passende Phospholipide in der Reparatur einbaut, während bei höherer Konzentration an EPL ausreichend adaequate Phospholipide vorhanden sind, um die Membranstabilität wiederherzustellen. Zur Klärung dieser Frage werden aufwendigere Methoden, wie Phospholipidanalyse der Ansätze vor und während der Inkubation sowie die Analyse der Erythrozytenmembran, benötigt werden. Die vorliegende Arbeit kann hierzu keinen Beitrag leisten. Sie begründet aber die Ansicht, daß eine Zugabe von EPL - zwar konzentrationsabhängig - die Nebenwirkung des Aeszins in Form der Hämolyse eher begünstigt. Vor einem solchen Zusatz muß nach den hier gezeigten Ergebnissen gewarnt werden.

VIII. Zusammenfassung.

Das Ausmaß einer Hämolyse durch Aeszin wurde unter verschiedenen Bedingungen mittels der Evelyn und Malloy'schen Methode zur Bestimmung von Hämoglobin *in vitro* untersucht.

In den Versuchen wurde der Frage nachgegangen, welchen Einfluß "essentielle" Phospholipide allein und in Kombination mit Cholesterin auf die aeszinbedingte Hämolyse ausüben.

Es wurde ein Ansatz entwickelt, der es erlaubte, durch Variation der Konzentrationen und der Zeit sowie durch Zugabe von Albumin, Serum, Cholesterin und EPL, die aeszinbedingte Hämolyse zu verfolgen.

Unsere Ergebnisse bezüglich der hämolysierenden Potenz von Aeszin stimmten mit den Angaben in der Literatur überein. Auch fanden wir, daß die Hämolyse durch Zugabe von Albumin und homologem Serum eingeschränkt bis verhindert werden kann. Diese Tatsache wird auf die Bildung eines Aeszinalbuminats und auf einen Einfluß des Cholesterins im Serum zurückgeführt.

EPL allein führte in unseren Versuchen zu einer Hämolyse. Dieser Befund ist zu erklären durch den Lysolecithingehalt der EPL-Lösung, der nach

Angaben des Herstellers (s. Material) 3 bis 5 % betragen soll. Nach Serumzusatz konnte die EPL-bedingte Hämolyse beseitigt werden. Unter zusätzlicher Aeszineinwirkung lag die durch Aeszin ausgelöste Hämolyse bei EPL-Konzentrationen von 10,0 mg/100 ml bis 100,0 mg/100 ml (s. Abb. 6) jedoch deutlich über den EPL-freien Kontrollen. Erst bei recht hohen Konzentrationen (1,5 g EPL/100 ml) wurde ein protektiver Effekt nachweisbar. Die Hämolyse nahm ab.

Infolge unserer Ergebnisse kamen wir zu der Ansicht, daß eine Gabe von Aeszin und EPL als Kombinationspräparat nicht sinnvoll ist, da protektive Konzentrationen von 1,5 g EPL/100 ml in vivo nicht erreichbar sind, während empfohlene therapeutische Konzentrationen die aeszinbedingte Hämolyse verstärkten. Die Anwendung dieser Kombinationspräparate erscheint uns daher nicht berechtigt, weil anzunehmen ist, daß die durch Aeszin ausgelöste Hämolyse von dem EPL-Anteil eher begünstigt wird.

IX. Tabellen

Tab. 1

a) Ansatz:

	Kontrolle		1	2	3	4	
O,89%NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Aeszin	-	0,04	0,08	0,16	0,32	mg/Ansatz	

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,239	0,235	0,225	0,215	0,226	
n. 10 Min.	-	-	-	3,4	33,1	%
30 "	-	-	-	9,4	64,1	%
60 "	-	-	-	12,1	75,1	%
90 "	-	-	-	14,9	79,1	%
120 "	-	-	-	16,8	84,0	%

Tab. 2

a) Ansatz:

	Kontrolle		1	2	3	4	5	
O,89%NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Aeszin	-	0,16	0,20	0,24	0,28	0,32	mg/Ans.	

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,243	0,220	0,222	0,223	0,224	0,255	
n. 10 Min.	-	1,4	6,4	14,1	35,2	46,5	%
30 "	-	4,93	17,1	39,7	68,8	73,0	%
60 "	-	4,93	35,5	63,1	77,4	79,5	%
90 "	-	16,1	43,5	73,5	83,0	84,5	%
120 "	-	23,4	53,5	79,0	86,5	85,0	%

Tab. 3

a) Ansatz wie Tab. 2

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,178	0,162	0,170	0,184	0,166	0,186	
n. 10 Min.	-	1,2	6,1	13,5	33,5	47,8	%
30 "	-	2,73	16,7	39,4	62,5	74,0	%
60 "	-	7,3	37,8	64,0	75,5	80,5	%
90 "	-	15,0	47,0	71,9	80,5	81,8	%
120 "	-	22,8	58,5	79,0	85,0	84,5	%

Tab. 4

a) Ansatz wie Tab. 2

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,207	O,226	O,181	O,184	O,182	O,184	
n. 10 Min.	-	1,1	5,4	13,7	33,1	44,5	%
30 "	-	3,77	14,42	34,7	67,5	72,0	%
60 "	-	4,54	30,3	58,8	73,2	78,5	%
90 "	-	14,41	38,7	66,2	84,5	85,7	%
120 "	-	22,41	48,0	71,2	86,5	88,0	%

Tab. 5

a) Ansatz:

	Kontrolle	1	2	3	4	5	
O,89%NaCl	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Serum	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	ml
Aeszin	-	0,16	0,20	0,24	0,28	0,32	mg/Ans.

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,178	O,185	O,188	O,177	O,181	O,190
Nach 10, 30, 60, 90 und 120 Min. Inkubation (37°C) keine Hämolyse.						

Tab. 6

a) Ansatz wie Tab. 5

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,187	O,191	O,188	O,191	O,188	O,192
Nach 10, 30, 60, 90 und 120 Min. Inkubation keine Hämolyse.						

Tab. 7

a) Ansatz wie Tab. 5

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,179	O,181	O,183	O,184	O,184	O,185
Nach 10, 30, 60, 90 und 120 Min. Inkubation keine Hämolyse.						

Tab. 7,6

a) Ansatz:

	Kontrolle	1	
O,89%NaCl	2,5	2,5	ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	ml
Serum	0,5	0,5	ml
Aeszin	-	1,0	mg/Ansatz

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,179	O,184
Nach 10, 30, 60, 90 und 120 Min. Inkubation keine Hämolyse.		

Tab. 8

a) Ansatz:

	Kontrolle	1	2	3	4
C, 0,9% NaCl	2,5	2,5	2,6	2,7	2,6 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2 ml
Aeszin	-	1,0	1,0	1,0	1,0 mg/Ansatz

b) Ergebnisse:

	E. Ges. Hb.	0,205	0,207	0,208	0,203	0,209
n. 10 Min.	-	9,5	16,9	30,5	66,5	%
30 "	-	10,6	19,25	34,6	69,9	%
60 "	-	10,6	19,25	37,8	69,9	%
90 "	-	10,6	22,1	41,3	74,6	%
120 "	-	10,6	22,1	43,4	74,6	%

Tab. 9

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	4	5	6
C, 0,89% NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
Aeszin	-	-	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	2,0 mg/Ans.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,188	0,182	0,186	0,187	0,185	0,187	0,189	0,181
n. 30 Min.	-	-	5,5	19,0	44,5	73,7	83,6	84,5 %

Tab. 10

a) Ansatz wie Tab. 9

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,190	0,185	0,189	0,181	0,175	0,180	0,183	0,188
n. 30 Min.	-	-	1,9	13,5	34,5	65,4	79,1	82,1 %

Tab. 11

a) Ansatz wie Tab. 9

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,175	0,169	0,176	0,180	0,172	0,176	0,180	0,168
n. 30 min.	-	-	2,5	16,0	40,8	69,0	82,5	84,0 %

Tab. 9 - 11 gemittelt:

	1	2	3	4	5	6
	2,5	16,0	40,8	69,0	82,5	84,0 %
	5,5	19,0	44,5	73,7	83,6	84,5 %
	1,9	13,5	34,5	65,4	79,1	82,1 %
$\bar{x}$	= 3,3	16,16	39,93	39,36	81,73	83,5 %

Tab. 12

a) Ansatz:

	Kontr.	1	2	3	4	5	
O,89%NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Serum	-	-	-	-	-	-	
Aeszin	-	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	mg/Ansatz

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,175	O,180	O,176	O,181	O,175	O,171	
n. 30 Min.	-	34,1	68,3	75,5	79,5	82,6	%

Tab. 13

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	4	5	6	7
O,89%NaCl	3,0	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6 ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4 ml
Aeszin	-	-	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8 mg/Ä.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,195	O,190	O,192	O,194	O,190	O,191	O,194	O,192	O,185
N. 30 Min.	-	-	1,5	3,5	13,5	36,5	55,5	72,1	79,3 %

Tab. 14

a) Ansatz wie Tab. 13

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,168	O,169	O,170	O,175	O,168	O,170	O,165	O,175	O,168
n. 30 Min.	-	-	-	2,2	11,1	33,5	54,1	71,9	80,1 %

Tab. 15

a) Ansatz wie Tab. 13

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,175	O,170	O,180	O,182	O,185	O,179	O,178	O,181	O,175
n. 30 Min.	-	-	1,1	5,5	17,3	36,1	59,5	75,3	81,5 %

Tab. 13 - 15 gemittelt

	1	2	3	4	5	6	7
	1,5	3,5	13,5	36,5	55,5	72,1	79,9 %
	-	2,2	11,5	33,5	54,1	71,9	80,1 %
	1,1	5,5	17,3	36,1	59,5	75,3	81,5 %
$\bar{x} =$	0,86	3,73	14,1	35,36	56,36	73,1	80,5 %

Tab. 16

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	4	5	6	7
O,89,NaCl	3,0	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5 ml
Erythro. z.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 ml
Aeszin	-	-	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0 mg/A.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.

	0,170	0,172	0,180	0,175	0,178	0,180	0,178	0,177	0,180
n. 30 Min.	-	-	1,1	4,5	9,1	24,5	42,5	66,5	78,9 %

Tab. 17

a) Ansatz: wie Tab. 16

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.

	0,168	0,165	0,170	0,168	0,171	0,168	0,165	0,170	0,168
n. 30 Min.	-	-	-	1,5	6,2	22,5	45,4	63,2	77,8 %

Tab. 18

a) Ansatz wie Tab. 16

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.

	0,170	0,168	0,172	0,175	0,171	0,175	0,172	0,168	0,165
n. 30 Min.	-	-	1,5	6,5	12,2	27,6	48,3	67,2	80,1 %

Tab. 16 - 18 gemittelt

	1	2	3	4	5	6	7
	1,1	4,5	9,1	24,5	42,5	66,5	78,9 %
	-	1,5	6,2	2,5	45,4	63,2	77,8 %
	1,5	6,5	12,2	27,6	48,3	67,2	80,1 %
$\bar{x}$	= 0,86	4,16	9,16	24,9	45,4	65,63	78,93 %

Tab. 19

a) Ansatz:

	Kontr.	1	2	3	4	5
O,89,NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0 ml
Erythro. z.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
H.A. 4%	-	-	-	-	-	-
Aeszin	-	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8 mg/Ans.

b) Ergebnis:

	E. Ges. Hb.	0,190	0,188	0,185	0,189	0,187	0,185
n. 30 Min.	-	34,1	68,3	75,5	79,5	82,6	%

Tab. 20

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr. 1	2	3	4	5	6	
O,89%NaCl	3,0	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
H.A. 4%	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 ml
Aeszin	-	-	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1,0 mg/Ans.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.		O,187	O,190	O,191	O,188	O,185	O,187	O,191	O,188
n,30 Min.	-	-	3,5	6,8	22,5	67,1	78,6	81,5	%

Tab. 21

a) Ansatz wie Tab. 20

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,168	O,170	O,169	O,178	O,170	O,175	O,168	O,170
n,30 Min.	-	-	1,5	4,5	18,2	63,3	76,8	82,0 %

Tab. 22

a) Ansatz wie Tab. 20

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,168	O,165	O,170	O,172	O,169	O,165	O,170	O,169
n,30 Min.	-	-	5,5	8,3	23,5	70,5	81,6	82,5 %

Tab. 20 - 22 gemittelt

	1	2	3	4	5	6	
	3,5	6,8	22,5	67,1	78,6	81,5	%
	1,5	4,5	18,2	63,3	76,8	82,0	%
	5,5	8,3	23,5	70,5	81,6	82,5	%
$\bar{x} =$	3,5	6,53	21,4	66,96	79,0	82,0	%

Tab. 23

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr. 1	2	3	4	5	6	
O,89%NaCl	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
H.A. 4%	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 ml
Aeszin	-	-	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1,0 mg/Ans.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	O,188	O,185	O,182	O,187	O,185	O,189	O,185	O,179
n,30 Min.	-	-	3,4	3,5	16,5	52,0	77,5	81,4 %

Tab. 24

a) Ansatz wie Tab. 23

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr. 1	2	3	4	5	6	
E. Ges. Hb.	0,165	0,170	0,168	0,170	0,172	0,170	0,165	0,168
n. 30 Min.	-	-	2,5	2,9	14,5	49,2	78,5	82,5 %

Tab. 25

a) Ansatz wie Tab. 23

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,191	0,189	0,185	0,180	0,187	0,181	0,183	0,187
n 30 Min.	-	-	1,9	2,4	12,1	50,5	80,4	82,1 %

Tab. 23 - 25 gemittelt

	1	2	3	4	5	6	
	3,4	3,5	16,5	52,0	77,5	81,4	%
	2,5	2,9	14,5	49,2	78,5	82,5	%
	1,9	2,4	12,1	50,5	80,4	82,1	%
$\bar{x}$ =	2,6	2,93	14,4	50,56	78,8	82,0	%

Tab. 26

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr. 1	2	3	4	5	
C, 89% NaCl	3,0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
H. A. 4%	-	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5 ml
Aeszin	-	-	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2 mg/Ans.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,185	0,182	0,187	0,189	0,182	0,190	0,185
n. 30 Min.	-	-	2,4	28,1	59,0	78,5	82,2 %

Tab. 27

a) Ansatz wie Tab. 26

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,175	0,178	0,170	0,171	0,175	0,178	0,179
n. 30 Min.	-	-	4,5	32,5	65,0	79,6	81,7 %

Tab. 28

a) Ansatz wie Tab. 26

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,155	0,157	0,159	0,158	0,155	0,156	0,158
n. 30 Min.	-	-	1,2	26,7	57,5	80,7	83,2 %

Tab. 26 - 28 gemittelt

	1	2	3	4	5	
	2,4	28,1	59,0	78,5	82,2	„
	4,5	32,5	65,0	79,6	81,6	„
	1,2	26,7	57,5	80,7	83,2	„
$\bar{x}$ =	2,7	28,1	60,5	79,6	81,3	„

Tab. 29

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	4	5	6
O,89%NaCl	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 ml	1,0 ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml	2,0 ml
H ₂ A. 4%	-	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml	2,0 ml
Aeszin	-	-	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4 mg/Ans.

b) Ergebnis:

E.Ges.Hb.O,	187	0,185	0,189	0,186	0,184	0,185	0,182	0,185
n,30 Min.	-	-	1,2	19,0	48,0	71,0	80,5	81,9 %

Tab. 30

a) Ansatz wie Tab. 29

b) Ergebnis:

E.Ges.Hb.O,	168	0,165	0,169	0,170	0,165	0,169	0,163	0,167
n30 Min.	-	-	2,5	25,1	54,1	74,5	82,1	83,1 %

Tab. 31

a) Ansatz wie Tab. 29

b) Ergebnis:

E.Ges.Hb.O,	170	0,172	0,170	0,175	0,171	0,175	0,179	0,176
n,30 Min.	-	-	-	13,9	41,9	68,3	78,2	78,8 %

Tab. 29 - 31 gemittelt

	1	2	3	4	5	6
	1,2	19,0	48,0	71,0	80,5	81,9 „
	2,5	25,1	54,1	74,5	82,1	83,1 „
	-	13,9	41,9	68,8	78,2	78,8 „
$\bar{x}$ =	1,2	19,3	48,0	71,4	80,3	81,9 „

Tab. 32

a) Ansatz:

	Kontr.	1	2	3	4
O,89%NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0 1
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
EPL-I	-	5,0	10,0	15,0	20,0 mg/Ansatz

b) Ergebnis:

E.Ges.Hb.	0,175	0,179	0,173	0,174	0,170
n,30 Min	-	57,6	72,0	59,0	70,0 „

Tab. 33

a) Ansatz:

	Kontr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0,3%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythro.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
EFL-I	-	-	0,05	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0	10,0	25,0	50,0	75,0	100	150 μ l/Ans.

2 Std. Inkubation bei 37 °C

Aeszin - 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0 μ l/A.

n. 30 Min. - 19,0 20,7 24,1 30,0 36,0 50,0 73,5 78,5 77,9 79,1 79,6 79,8 67,5 41,1 16,5 5,5 - %

Tab. 34

a) Ansatz wie Tab. 33

b) Ergebnis:

n. 30 Min. - 25,2 31,1 35,5 47,6 62,1 74,5 79,3 78,8 80,1 79,9 80,5 71,1 48,1 19,5 6,5 - %

Tab. 35

a) Ansatz wie Tab. 33

b) Ergebnis:

n. 30 Min. - 23,8 25,3 26,1 29,9 45,1 60,5 72,5 75,1 78,5 78,6 73,5 75,0 56,1 53,5 11,5 2,0 %

Tab. 36

Ansatz	1	2	3
pH	7,65	7,7	7,75
mosm.	286	286	290
Ansatz	1x	2x	3x
pH	7,7	7,7	7,7
mosm.	290	290	290

Tab. 37

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6	ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4	ml
EPL-I	-	-	-	-	-	
2 Std. 37 °C						
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0	mg/Ans.

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,205	0,209	0,218	0,208	0,199	
n. 10 Min.	-	-	14,7	11,5	11,1	%
20 "	-	-	21,1	15,4	12,5	%
30 "	-	-	25,8	16,3	14,6	%

Tab. 37x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x	
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6	ml
Erythrozo.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4	ml
EPL-I	-	-	5,0	5,0	5,0	mg/Ansatz
2 Std. 37 °C						
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0	mg/Ansatz

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,200	0,195	0,192	0,200	0,193	
n. 10 Min.	-	-	77,6	78,2	81,5	%
20 "	-	-	83,0	78,5	82,5	%
30 "	-	-	86,0	82,0	84,0	%

Tab. 36

a) Ansatz wie Tab. 37

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,168	0,169	0,169	0,165	0,167
n. 10 Min.	-	-	24,2	19,4	9,6 %
20 "	-	-	35,5	25,5	9,6 %
30 "	-	-	37,9	25,5	9,6 %

Tab. 38x

a) Ansatz wie Tab. 37x

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,169	0,167	0,169	0,165	0,167
n. 10 Min.	-	-	78,3	74,5	78,0 %
20 "	-	-	78,3	77,5	82,9 %
30 "	-	-	78,3	77,5	83,1 %

Tab. 39

a) Ansatz wie Tab. 37

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,205	0,207	0,209	0,205	0,210
n. 10 Min.	-	-	28,2	7,8	6,7 %
20 "	-	-	39,2	11,7	9,55 %
30 "	-	-	46,9	13,7	10,5 %

Tab. 39x

a) Ansatz wie Tab. 37x

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,205	0,206	0,210	0,205	0,212
n. 10 Min.	-	-	69,4	78,4	70,4 %
20 "	-	-	75,5	73,8	70,4 %
30 "	-	-	75,5	77,5	73,4 %

Tab. 40

a) Ansatz wie Tab. 37

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,196	0,193	0,196	0,190	0,190
n. 10 Min.	-	-	52,0	15,8	7,9 %
20 "	-	-	67,0	22,1	8,95 %
30 "	-	-	69,0	27,4	10,0 %

Tab. 40x

a) Ansatz wie Tab. 37x

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,195	0,192	0,196	0,195	0,195
n. 10 Min.	-	-	79,4	80,0	77,0 %
20 "	-	-	79,4	82,5	77,0 %
30 "	-	-	85,0	83,8	77,0 %

Tab. 41

a) Ansatz wie Tab. 37

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
E. Ges. Hb.	0,182	0,183	0,184	0,180	0,180
n. 10 Min.	-	-	65,3	24,4	10,8 %
20 "	-	-	76,9	40,0	15,0 %
30 "	-	-	78,8	46,6	15,0 %

Tab. 41x

a) Ansatz wie Tab. 37x

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,187	0,185	0,186	0,186	0,180
n. 10 Min.	-	-	83,5	82,4	81,2 %
20 "	-	-	85,5	83,5	81,2 %
30 "	-	-	85,5	85,5	82,0 %

Tab. 42

Mittelwerte der Tab. 37 - 41

	1	2	3
n. 10 Min.	14,7 24,2 28,2 52,0 65,3	11,5 19,4 7,8 15,8 24,4	11,1 9,6 6,7 7,9 10,8
$\bar{x} =$	$\pm 40,48$ $\pm 17,70 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 15,78$ $\pm 5,82 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 9,22$ $\pm 1,68 \%$
n. 20 Min.	21,1 35,5 39,2 67,0 76,9	15,4 25,5 11,7 22,1 40,0	12,5 9,6 9,55 8,95 15,0
$\bar{x} =$	$\pm 47,94$ $\pm 20,75 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 22,94$ $\pm 9,81 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 11,12$ $\pm 2,29 \%$
n. 30 Min.	25,8 37,9 46,9 69,0 78,8	16,3 25,5 13,7 27,4 46,6	14,6 9,6 10,5 10,0 15,0
$\bar{x} =$	$\pm 51,68$ $\pm 19,58 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 25,90$ $\pm 11,59 \%$	$\bar{x} =$ $\pm 11,94$ $\pm 2,35 \%$

Tab. 42x

Mittelwerte der Tab. 37x - 41x

	1x	2x	3x
n. 10 Min.	77,6	76,2	81,5
	78,3	74,5	78,0
	69,5	72,4	70,4
	79,4	80,0	77,0
	83,5	82,4	81,2
	$\bar{x} = \pm 77,66$ $\pm 4,56 \%$	$\bar{x} = \pm 77,50$ $\pm 3,62 \%$	$\bar{x} = \pm 77,62$ $\pm 4,01 \%$
n. 20 Min.	83,0	76,5	82,5
	78,3	77,5	82,9
	75,5	73,8	70,4
	79,4	82,5	77,0
	85,5	83,5	81,2
	$\bar{x} = \pm 80,34$ $\pm 3,52 \%$	$\bar{x} = \pm 79,16$ $\pm 4,71 \%$	$\bar{x} = \pm 78,84$ $\pm 4,71 \%$
	86,0	82,0	84,0
	78,3	77,5	83,1
	75,5	77,5	73,4
	85,0	83,8	77,0
	85,5	85,5	82,0
	$\bar{x} = \pm 82,06$ $\pm 4,31 \%$	$\bar{x} = \pm 81,26$ $\pm 3,26 \%$	$\bar{x} = \pm 79,90$ $\pm 4,05 \%$

Tab. 43

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
O,89,NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
EPL-II	-	-	-	-	-
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ansatz

b) Ergebnis:

	E. Ges. Hb.	0,196	0,199	0,200	0,196	0,196
n. 10 Min.	-	-	50,5	27,0	19,9 %	
20 "	-	-	62,5	38,2	31,1 %	
30 "	-	-	67,4	50,0	43,4 %	

Tab. 43x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
EPL-II	-	-	5,0	5,0	5,0 mg/Ansatz

2 Std. 37 °C

Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ansatz
--------	---	---	-----	-----	---------------

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,197	0,191	0,229	0,225	0,225
n. 10 Min.	-	-	79,1	75,6	78,3 %
20 "	-	-	80,1	78,4	80,5 %
30 "	-	-	80,9	82,6	82,6 %

Tab. 44

a) Ansatz wie Tab. 43

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,205	0,201	0,211	0,205	0,206
n. 10 Min.	-	-	23,7	18,1	10,7 %
20 "	-	-	29,9	27,8	13,6 %
30 "	-	-	34,6	30,7	14,15 %

Tab. 44x

a) Ansatz wie Tab. 43x

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,215	0,220	0,236	0,230	0,235
n. 10 Min.	-	-	58,1	41,3	31,4 %
20 "	-	-	76,4	64,0	47,6 %
30 "	-	-	76,4	70,0	55,4 %

Tab. 45

a) Ansatz wie Tab. 43

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,165	0,169	0,169	0,165	0,161
n. 10 Min.	-	-	63,3	38,8	7,45 %
20 "	-	-	67,5	49,6	14,9 %
30 "	-	-	71,0	60,0	19,9 %

Tab. 45x

a) Ansatz wie Tab. 43x

b) Ergebnis:

E. Ges. Hb.	0,165	0,162	0,171	0,176	0,175
n. 10 Min.	-	-	82,5	74,0	61,2 %
20 "	-	-	87,1	80,2	74,6 %
30 "	-	-	89,0	85,6	80,0 %

Tab. 46

a) Ansatz wie Tab. 43

b) Ergebnis:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
Ext.Ges.Hb.	O,164	O,165	O,165	O,165	O,169
n. 10 Min.	-	-	64,2	41,2	2,3 %
20 "	-	-	75,1	59,5	23,6 %
30 "	-	-	80,0	63,0	24,8 %

Tab. 46x

a) Ansatz wie Tab. 43x

b) Ergebnis

Ext.Ges.Hb.	O,165	O,160	O,171	O,171	O,176
n. 10 Min.	-	-	77,6	74,4	68,2 %
20 "	-	-	87,8	82,5	84,6 %
30 "	-	-	88,4	87,9	89,8 %

Tab. 47

a) Ansatz wie Tab. 43

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,163	O,165	O,164	O,165	O,165
n. 10 Min.	-	-	71,5	32,7	21,2 %
20 "	-	-	72,6	44,9	25,4 %
30 "	-	-	74,5	48,5	26,7 %

Tab. 47x

a) Ansatz wie Tab. 43x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,160	O,162	O,160	O,165	O,165
n. 10 Min.	-	-	80,6	69,3	42,5 %
20 "	-	-	82,5	75,1	48,5 %
30 "	-	-	85,0	81,3	54,5 %

Tab. 48

Mittelwerte der Tab. 43 - 47

	1	2	3
	50,5	27,0	19,9
	23,7	18,1	10,7
n.10	63,3	38,8	7,45
Min.	64,2	41,2	8,3
	71,5	32,7	21,2
$\bar{x} =$	54,64	31,56	13,51
$\pm$	16,88 %	8,34 %	5,86 %

	1	2	3
n. 20	62,5	38,2	31,1 ,o
Min.	29,9	27,8	13,6 ,o
	67,5	49,6	14,9 ,o
	75,1	59,5	23,6 ,o
	72,6	44,9	25,4 ,o
$\bar{x}$	= 61,52	= 44,00	= 21,72
$\pm$	16,39 %	10,60 ,o	6,59 ,o
n. 30	67,4	50,0	43,4 ,o
Min.	34,6	30,7	14,15 ,o
	71,0	60,0	19,9 ,o
	80,0	63,0	24,8 ,o
	74,5	48,5	26,7 ,o
$\bar{x}$	= 65,60	= 50,44	= 25,79
$\pm$	15,99 %	11,33 %	9,81 ,o

Tab. 48x

Mittelwerte der Tab. 43x - 47x

n. 10	79,1	75,6	78,3 ,o
Min.	58,1	41,3	31,4 ,o
	82,5	74,0	61,2 ,o
	77,6	74,4	28,2 %
	80,6	69,3	42,5 %
$\bar{x}$	= 77,58	= 66,92	= 48,22
$\pm$	8,88 %	12,98 %	18,91 %
	80,1	78,4	80,5 ,o
	76,4	64,0	47,6 ,o
	87,1	80,2	74,6 ,o
	87,8	82,5	84,6 ,o
	82,5	75,1	54,6 ,o
$\bar{x}$	= 82,78	= 76,04	= 68,36
$\pm$	4,28 %	6,48 %	14,65 %
	80,9	82,6	82,6 ,o
	76,4	70,0	55,4 ,o
	89,0	85,6	80,0 ,o
	88,4	87,9	89,8 ,o
	85,0	81,3	54,5 ,o
$\bar{x}$	= 83,94	= 81,48	= 72,46
$\pm$	4,74 %	6,18 %	14,65 %

Tab. 49

a) Ansatz:	Kontr.	Kontr.	1	2	3
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythro.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
EPL-I	-	-	-	-	-
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
b) Ergebnis:					
Ext.Ges.Hb.	0,156	0,160	0,159	0,159	0,156
n. 10 Min.	-	-	28,3	17,6	10,2 %
20 "	-	-	38,4	20,8	12,2 %
30 "	-	-	43,4	25,1	15,4 %

Tab. 49x

a) Ansatz:	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythro.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
EPL-I	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
b) Ergebnis:					
Ext.Ges.Hb.	0,167	0,168	0,169	0,165	0,164
n. 10 Min.	-	-	74,1	55,1	39,7 %
20 "	-	-	75,7	63,6	43,9 %
30 "	-	-	76,9	67,1	48,7 %

Tab. 49xx

a) Ansatz:	Kontr.	Kontr.	1xx	2xx	3xx
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythro.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
inakt. Ser.	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
EPL-I	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
b) Ergebnis:					
Ext.Ges.Hb.	0,164	0,169	0,172	0,165	0,165
n. 10 Min.	-	-	70,4	60,0	44,9 %
20 "	-	-	75,6	67,9	50,3 %
30 "	-	-	78,5	72,0	53,9 %

Tab. 50

a) Ansatz wie Tab. 49

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,175	0,170	0,181	0,180	0,179	
n. 10 Min.	-	-	21,6	14,5	4,45	%
20 "	-	-	33,2	15,5	6,15	%
30 "	-	-	39,4	22,5	11,5	%

Tab. 50x

a) Ansatz wie Tab. 49x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,178	0,180	0,182	0,180	0,175	
n. 10 Min.	-	-	52,1	41,6	33,4	%
20 "	-	-	59,4	47,1	42,1	%
30 "	-	-	65,5	55,0	45,5	%

Tab. 50xx

a) Ansatz wie Tab. 49xx

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,177	0,178	0,180	0,181	0,178	
n. 10 Min.	-	-	55,5	42,5	34,3	%
20 "	-	-	62,2	49,6	41,5	%
30 "	-	-	66,6	57,5	46,5	%

Tab. 51

a) Ansatz wie Tab. 49

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,170	0,168	0,179	0,172	0,176	
n. 10 Min.	-	-	29,1	18,6	11,4	%
20 "	-	-	38,0	21,5	12,5	%
30 Min.	-	-	40,2	24,4	13,7	%

Tab. 51x

a) Ansatz wie Tab. 49x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,167	0,170	0,168	0,170	0,173	
n. 10 Min.	-	-	58,1	48,2	38,2	%
20 "	-	-	68,5	57,6	43,9	%
30 "	-	-	76,1	61,6	46,7	%

Tab. 51xx

a) Ansatz wie Tab. 49xx

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,175	0,176	0,176	0,178	0,178	
n. 10 Min.	-	-	56,7	48,4	40,5	%
20 "	-	-	67,6	58,3	46,0	%
30 "	-	-	76,1	62,2	50,0	%

Mittelwerte der Tab. 49 - 51

	1	2	3
n. 10 Min.	28,3 29,1 31,6	17,6 14,5 18,6	10,2 4,45 11,4
$\bar{x}$	$\pm 26,13$ $\pm 4,12 \%$	$\bar{x} = \pm 16,90$ $\pm 2,14 \%$	$\bar{x} = \pm 8,68$ $\pm 3,71 \%$
n. 20 Min.	38,4 33,2 38,0	15,5 20,8 21,5	12,2 6,15 13,5
$\bar{x}$	$\pm 36,53$ $\pm 2,89 \%$	$\bar{x} = \pm 19,27$ $\pm 3,28 \%$	$\bar{x} = \pm 10,52$ $\pm 3,81 \%$
n. 30 Min.	43,4 39,4 40,2	25,1 22,5 24,4	15,4 11,4 13,7
$\bar{x}$	$\pm 41,00$ $\pm 2,12 \%$	$\bar{x} = \pm 24,00$ $\pm 1,35 \%$	$\bar{x} = \pm 13,50$ $\pm 2,01 \%$

Mittelwerte der Tab. 49x - 51x

n. 10 Min.	74,1 52,1 58,1	55,1 41,6 48,2	39,7 33,4 38,2
$\bar{x}$	$\pm 64,43$ $\pm 11,37 \%$	$\bar{x} = \pm 48,30$ $\pm 6,75 \%$	$\bar{x} = \pm 37,10$ $\pm 3,29 \%$
n. 20 Min.	75,7 59,4 68,5	63,6 47,1 57,6	43,9 42,1 43,9
$\bar{x}$	$\pm 67,87$ $\pm 8,17 \%$	$\bar{x} = \pm 56,10$ $\pm 8,35 \%$	$\bar{x} = \pm 43,30$ $\pm 1,04 \%$
n. 30 Min.	76,9 65,5 76,1	67,1 55,0 61,6	48,7 45,5 46,7
$\bar{x}$	$\pm 72,83$ $\pm 6,36 \%$	$\bar{x} = \pm 61,23$ $\pm 6,06 \%$	$\bar{x} = \pm 46,97$ $\pm 1,62 \%$

Mittelwerte der Tab. 49xx - 51xx

n. 10 Min.	56,7 55,5 70,4	48,4 42,5 60,0	40,5 34,3 44,9
$\bar{x}$	$\pm 60,87$ $\pm 8,28 \%$	$\bar{x} = \pm 50,3$ $\pm 8,90 \%$	$\bar{x} = \pm 39,9$ $\pm 5,33 \%$
n. 20 Min.	67,6 62,2 75,6	58,3 49,6 67,9	46,0 41,5 50,3
$\bar{x}$	$\pm 66,47$ $\pm 6,74 \%$	$\bar{x} = \pm 58,60$ $\pm 9,15 \%$	$\bar{x} = \pm 45,93$ $\pm 4,40 \%$

	70,1	67,1	68,0
n. 30 Min.	66,0	67,5	67,0
	70,5	70,0	69,0
$\bar{x} =$	$73,71$	$68,20$	$69,13$
	$\pm 6,29$	$\pm 7,10$	$\pm 1,70$

Tab. 52

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
Chol+EPL-I	-	-	-	-	-
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ansatz

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,198	0,204	0,202	0,201	0,196
n. 10 Min.	-	-	46,5	40,8	36,7 %
20 "	-	-	51,0	46,6	39,3 %
30 "	-	-	54,9	51,0	41,9 %

Tab. 52x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,65	2,6 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,35	0,4 ml
Chol.+EPL-I	-	-	1,25	1,25	1,25 mg/Ansatz
	-	-	5,0	5,0	5,0 mg/Ansatz
2 Std. 37 °C					
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ansatz

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,195	0,198	0,199	0,199	0,201
n. 10 Min.	-	-	36,1	27,1	20,9 %
20 "	-	-	42,1	33,2	25,4 %
30 "	-	-	42,1	33,2	27,9 %

Tab. 53

a) Ansatz wie Tab. 52

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,171	0,174	0,172	0,171	0,174
n. 10 Min.	-	-	37,2	32,2	18,4 %
20 "	-	-	41,3	35,6	20,7 %
30 "	-	-	43,6	38,0	24,2 %

Tab. 50x

a) Ansatz wie Tab. 50x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,168	O,171	O,175	O,173	O,176	
n. 10 Min.	-	-	27,4	15,1	13,1	%
20 "	-	-	27,4	15,1	14,2	%
30 "	-	-	30,9	16,2	14,2	%

Tab. 54

a) Ansatz wie Tab. 52

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,174	O,176	O,179	O,177	O,176	
n. 10 Min.	-	-	45,1	40,6	32,9	%
20 "	-	-	46,9	41,7	34,6	%
30 "	-	-	54,6	42,3	36,7	%

Tab. 54x

a) Ansatz wie Tab. 52x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,176	O,175	O,177	O,178	O,176	
n. 10 Min.	-	-	34,4	29,2	21,6	%
20 "	-	-	38,4	30,4	23,2	%
30 "	-	-	44,0	30,8	29,4	%

Tab. 55

a) Ansatz wie Tab. 52

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,193	O,195	O,194	O,195	O,196	
n. 10 Min.	-	-	52,5	41,5	36,4	%
20 "	-	-	57,1	47,6	38,8	%
30 "	-	-	77,7	52,6	41,3	%

Tab. 55x

a) Ansatz wie Tab. 52x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,195	O,197	O,196	O,195	O,198	
n. 10 Min.	-	-	35,6	28,7	21,2	%
20 "	-	-	40,3	28,7	21,2	%
30 "	-	-	44,0	29,7	21,7	%

Tab. 56

a) Ansatz wie Tab. 52

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	O,192	O,194	O,196	O,195	O,192	
n. 10 Min.	-	-	43,9	38,2	34,9	%
20 "	-	-	49,5	40,5	35,4	%
30 "	-	-	50,5	41,0	35,9	%

Tab. 56x

a) Ansatz wie Tab. 52x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,193	0,195	0,196	0,197	0,198
n. 10 Min.	-	-	36,8	29,3	20,3
20 "	-	-	41,8	31,0	22,4
30 "	-	-	42,4	31,9	24,5

Tab. 57

Mittelwerte der Tab. 52 - 56

	1	2	3
n. 10 Min.	46,5 43,9 52,5 37,2 45,1	40,8 36,2 41,5 32,2 40,6	36,7 34,9 36,4 18,4 32,9
$\bar{x}$	$\pm 44,96$ $\pm 4,93$ %	$\bar{x} = \pm 38,66$ $\pm 3,41$ %	$\bar{x} = \pm 31,86$ $\pm 6,86$ %
n. 20 Min.	51,0 49,5 57,1 41,3 46,9	46,6 40,5 47,6 35,6 41,7	39,3 35,4 38,8 20,7 34,6
$\bar{x}$	$\pm 49,16$ $\pm 5,16$ %	$\bar{x} = \pm 42,40$ $\pm 4,35$ %	$\bar{x} = \pm 33,76$ $\pm 6,78$ %
n. 30 Min.	54,9 50,5 57,7 43,6 54,6	51,6 41,0 52,6 38,0 42,3	41,9 35,9 41,3 24,2 36,7
$\bar{x}$	$\pm 52,26$ $\pm 4,90$ %	$\bar{x} = \pm 45,10$ $\pm 5,89$ %	$\bar{x} = \pm 36,00$ $\pm 6,36$ %

Tab. 57x

Mittelwerte der Tab. 52x - 56x

n. 10 Min.	34,4 27,4 35,6 36,8 36,1	29,2 15,1 28,7 25,3 27,1	21,6 13,1 21,2 20,3 20,9
$\bar{x}$	$\pm 34,06$ $\pm 3,42$ %	$\bar{x} = \pm 25,08$ $\pm 5,17$ %	$\bar{x} = \pm 19,42$ $\pm 3,18$ %
n. 20 Min.	38,4 27,4 40,3 41,8 42,1	30,4 15,1 28,1 31,0 33,2	23,2 14,2 21,2 22,4 25,4
$\bar{x}$	$\pm 38,00$ $\pm 5,46$ %	$\bar{x} = \pm 27,68$ $\pm 6,45$ %	$\bar{x} = \pm 21,28$ $\pm 3,79$ %

	40,0	30,8	24,4
n. 30 Min.	30,9	16,2	14,2
	44,0	29,7	21,7
	42,4	31,9	24,5
	42,1	33,2	27,9
$\bar{x}$	$= \pm 40,68$	$\bar{x} = \pm 28,36$	$\bar{x} = \pm 22,54$
	$4,95 \%$	$6,18 \%$	$4,61 \%$

Tab. 58

Ansatz:	1	2	3
pH	7,9	7,9	7,9
osm.	290	290	290

Tab. 58x

pH	7,6	7,65	7,7
osm.	260	265	265

Tab. 59

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3	4	5	6
0,89%NaCl	4,7	4,4	4,4	4,3	4,2	3,95	3,7	3,2 ml
Erythroz.	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,75	1,0	1,5 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
EPL-I	-	-	-	-	-	-	-	-
2 Std. 37 °C								
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,175	0,177	0,175	0,173	0,176	0,174	0,172	0,175
n. 30 Min.	-	-	50,0	45,1	41,0	28,8	23,8	16,5 %

Tab. 59x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x	4x	5x	6x
0,89%NaCl	4,7	4,4	4,4	4,3	4,2	3,95	3,7	3,2 ml
Erythroz.	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,75	1,0	1,5 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
EPL-I	-	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 mg/A.
2 Std. 37 °C								
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0 mg/A.

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,172	0,175	0,173	0,170	0,175	0,173	0,172	0,174
n. 30 Min.	-	-	78,3	75,9	73,3	52,6	41,5	23,0 %

Tab. 60

a) Ansatz wie Tab. 59

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb. O,165 O,160 O,162 O,167 O,165 O,164 C,167 C,169
n. 30 Min. - - 42,5 49,1 33,1 27,0 19,1 13,0 %

Tab. 60x

a) Ansatz wie Tab. 59x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb. O,170 O,168 O,165 O,167 O,159 C,165 C,163 O,166
n. 30 Min. - - 83,5 78,1 72,0 58,5 43,5 24,0 %

Tab. 61

a) Ansatz wie Tab. 59

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb. O,179 C,180 O,182 O,175 O,172 O,179 O,180 O,176
n. 30 Min. - - 55,5 52,0 44,1 33,1 21,5 11,5 %

Tab. 61x

a) Ansatz wie Tab. 59x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb. O,175 O,176 O,180 O,178 O,175 O,177 O,178 O,180
n. 30 Min. - - 80,5 76,0 68,5 51,5 38,5 21,5 %

Tab. 59 - 61 gemittelt

	1	2	3	4	5	6	
n. 30	50,0	45,1	41,0	28,8	23,8	16,5	%
Min.	42,5	40,1	33,1	27,0	19,1	13,0	%
	55,5	52,0	44,1	33,1	21,5	11,5	%
$\bar{x}$	49,4	45,6	39,5	29,6	21,4	13,7	%

Tab. 59x - 61x gemittelt

n. 30	78,3	75,9	73,3	52,6	41,5	23,0	%
Min.	83,5	78,1	72,0	58,5	43,5	24,0	%
	80,5	76,0	68,5	51,5	38,5	21,5	%
$\bar{x}$	81,6	76,5	71,0	54,1	41,0	22,8	%

Tab. 62

Hämatokrit der Ansätze 59 - 61

Ansatz:	1	2	3	4	5	6	
HK	: 5	7	8	13	17	25	%

Tab. 62

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
O,89 ₁₀ NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
EPL-I	-	-	-	-	-
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.

2 Std. 37 °C

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,185	0,180	0,182	0,185	0,184
n. 2 Std.	-	-	22,2	24,2	23,1 %

Tab. 63x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x
O,89 ₁₀ NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythroz.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
EPL-I	-	-	0,5	5,0	50,0 mg/Ans.
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.

} gleich-
zeitig

2 Std. 37 °C

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,190	0,185	0,191	0,186	0,189
n. 2 Std. 37 °C	-	-	39,5	86,5	49,0 %

Tab. 64

a) Ansatz wie Tab. 63

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,165	0,170	0,167	0,170	0,172
n. 2 Std.	-	-	26,5	25,5	27,5 %

Tab. 64x

a) Ansatz wie Tab. 63x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,168	0,167	0,170	0,168	0,171
n. 2 Std.	-	-	44,0	82,5	57,5 %

Tab. 65

a) Ansatz wie Tab. 63

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,175	0,177	0,180	0,185	0,183
n. 2 Std.	-	-	20,5	19,5	19,5 %

Tab. 65x

a) Ansatz wie Tab. 63

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,170	0,174	0,178	0,180	0,179
n. 2 Std.	-	-	46,5	79,5	51,5 %

Tab. 63 - 65 gemittelt

	1	2	3
	22,2	24,2	23,1
	26,5	25,5	27,5
	20,5	19,5	19,5
$\bar{x}$ =	23,06 %	$\bar{x}$ = 23,06 %	$\bar{x}$ = 23,4 %

Tab. 63x - 65x gemittelt

	39,5	86,5	49,0
	44,0	82,5	57,5
	46,5	79,5	51,5
$\bar{x}$ =	43,3 %	$\bar{x}$ = 82,8 %	$\bar{x}$ = 52,6 %

Tab. 66

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1	2	3
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
2 Std. 37 °C					
EPL-I	-	-	-	-	-

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,165	0,170	0,171	0,165	0,168
n. 30 Min.	-	-	27,5	26,1	26,2 %

Tab. 66x

a) Ansatz:

	Kontr.	Kontr.	1x	2x	3x
O,89%NaCl	3,0	2,7	2,7	2,7	2,7 ml
Erythrozyt.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 ml
Serum	-	0,3	0,3	0,3	0,3 ml
Aeszin	-	-	1,0	1,0	1,0 mg/Ans.
2 Std. 37 °C					
EPL-I	-	-	0,5	5,0	50,0 mg/Ans.

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,170	0,168	0,170	0,168	0,171
n. 30 Min.	-	-	47,5	84,5	50,5 %

Tab. 67

a) Ansatz wie Tab. 66

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,158	0,163	0,165	0,170	0,173
n. 30 Min.	-	-	24,1	25,5	23,5 %

Tab. 67x

a) Ansatz wie Tab. 66x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,165	0,157	0,169	0,172	0,169
n. 30 Min.	-	-	53,5	66,0	59,5 %

Tab. 68

a) Ansatz wie Tab. 66

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,158	0,155	0,157	0,155	0,160
n. 30 Min.	-	-	21,5	20,5	20,0 %

Tab. 68x

a) Ansatz wie Tab. 66x

b) Ergebnis:

Ext.Ges.Hb.	0,160	0,158	0,155	0,160	0,159
n. 30 Min.	-	-	45,5	81,0	56,5 %

Tab. 66 - 68 gemittelt

1	2	3
27,5	26,1	26,2
24,1	23,5	23,5
21,5	20,5	20,0
$\bar{x} = 24,34 \%$	$\bar{x} = 23,33 \%$	$\bar{x} = 23,23 \%$

Tab. 66x - 68x gemittelt

1	2	3
47,5	84,5	50,5
55,5	86,0	59,5
45,5	81,0	56,5
$\bar{x} = 48,66 \%$	$\bar{x} = 83,83 \%$	$\bar{x} = 55,5 \%$

Statistische Prüfung der Ergebnisse.

Ein Großteil der in unseren Versuchen ermittelten Ergebnisse wurde mit verschiedenen statistischen Methoden auf Signifikanz geprüft. Insbesondere wollten wir wissen, ob die gefundene Serum- und Zeitabhängigkeit signifikant oder lediglich zufällig war.

Wir benutzten die partiell hierarchische Varianzanalyse, den F-Test und den Tukey-Test.

Mittels der Varianzanalyse wurde der Einfluß der einzelnen Komponenten (Substanzen, Zeit, Serum, Konzentrationen) auf die Abweichung des Meßwertes von einem Gesamtmittelwert, dem "wahren Meßwert" untersucht.

Der sich anschließende F-Test prüfte, ob innerhalb der gefundenen Mittelwerte einige Mittelwerte vom Gesamtmittelwert abweichen, ob sich also innerhalb bestimmter Versuchsgruppen Unterschiede finden.

Mit dem Tukey-Test als dritter statistischer Methode wurde die Signifikanz einzelner Mittelwertdifferenzen getestet; die mit dem F-Test gefundenen Unterschiede wurden lokalisiert.

F-Test

Prog. 3113 A=Konzentrationen, B=Serum, C=Zeit, D=Substanz

Einfluß- größen	SAQ	FG	MAQ
ABCD	1565.1706	112	13.9747
ABC	231.2321	16	14.4520
AB D	5978.6257	56	106.7612
AB	2097.3210	8	262.1651
A CD	1294.7961	56	23.1214
A C	273.7026	8	34.2128
A D	11000.7595	28	392.8843
A	3988.1691	4	997.0423
BCD	841.4669	28	30.0524
BC	5.3660	4	1.3415
B D	11389.5393	14	813.5385
B	19321.0479	2	9660.5239
CD	1204.9398	14	86.0671
C	4474.7662	2	2237.3831
D	203647.5156	7	29092.5024

Der F-Test zeigte, daß bei allen Substanzen die Hämolyse zeitabhängig ist. Mittels des nachstehenden Tukey-Testes lassen sich die Hämolyseunterschiede auf eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % bzw. 1 % prüfen.

Weiterhin ergab der F-Test, daß für die einzelnen Substanzen bezüglich der Hämolyse eine unterschiedliche Serumabhängigkeit besteht. Diese Differenzen werden ebenfalls mit dem Tukey-Test lokalisiert und auf Irrtumswahrscheinlichkeit geprüft.

Tukey-Werte für Zeit- und Serumabhängigkeit der einzelnen Versuchsreihen.

1. Zeitabhängigkeit

Tukey-Test

$$L = q_{1-\alpha, k, f} \times \sqrt{\frac{\text{MAQ}_{\text{Rest}}}{m}}$$

k = Anzahl Zeitpunkte (3)

f = Freiheitsgrad MAQ_{Rest} (328)

$\text{MAQ}_{\text{Rest}} = 91,4$

m = Anzahl Meßwerte je Mittelwert; m = 120

$q_{5\%, 3, 328} = 3,31$

$q_{1\%, 3, 38} = 4,12$

$$L = 3,31 \times \sqrt{\frac{91,4}{120}}$$

$$\underline{L = 2,89 \quad (5 \%)}$$

$$L = 4,12 \times \sqrt{\frac{91,4}{120}}$$

$$\underline{L = 3,60 \quad (1 \%)}$$

2. Serumabhängigkeit

Tukey-Test

$$L = q_{1-\alpha, k, f} \times \sqrt{\frac{\text{MAQ}_{\text{Rest}}}{m}}$$

k = Anzahl MW Serum x Substanz (24)

f = Freiheitsgrad MAQ_{Rest} (328)

m = Anzahl Meßwerte je MW (15)

$q_{5\%, 24, 328} = 5,30$

$q_{1\%, 24, 328} = 5,90$

$$L = 5,30 \times \sqrt{\frac{91,4}{15}}$$

$$\underline{L = 13,08 \quad (5 \%)}$$

$$\underline{L = 13,82 \quad (1 \%)}$$

Zur Serumabhängigkeit der Hämolyse unter Aeszin-,
Aeszin- und EPL- sowie Aeszin-, EPL- und Cholesterin-
einfluß.

T-Werte: 5 % 13,08

1 % 13,82

Abb. 7: ohne EPL-I

10 Min. a: 42,93 33,73

c: 9,20

20 Min. a: 48,29 37,19

c: 11,10

30 Min. a: 51,48 39,58

c: 11,90

Abb. 8: ohne EPL-II

10 Min. a: 54,64 41,13

c: 13,51

20 Min. a: 61,52 40,80

c: 21,72

30 Min. a: 65,50 39,71

c: 24,65

Abb. 10: ohne EPL-I und ohne Cholesterin

10 Min. a: 44,96 13,10

c: 31,86

20 Min. a: 49,16 16,40

c: 33,76

30 Min. a: 52,26 16,26

c: 36,00

Die Serumabhängigkeit der aeszinbedingten Hämolyse ist
in unserer Versuchsanordnung auf dem 1 % Niveau signifikant.

Abb. 10, 10 Min. auf dem 5 % Niveau; mit steigender Serumkonzentration nimmt die Hämolyse ab.

In der Versuchsreihe Aeszin und EPL-I hat die Serumkonzentration keinen signifikanten Einfluß auf die Hämolyse. Die Hämolyse ist jedoch auf dem 1 % Niveau signifikant höher als die reine aeszinbedingte Hämolyse.

Abb. 8: mit EPL-II

10 Min. a:	75,58	
c:	48,32	27,26
20 Min. a:	82,78	
c:	68,36	14,42
30 Min. a:	83,94	
c:	72,46	11,48

Bei Hämolyse durch Aeszin und EPL-II ist die Verringerung der Hämolyse durch Serum nur nach 10 und 20 Minuten Inkubationszeit signifikant (1 % Niveau); EPL-II hat zur Folge, daß die Hämolyse signifikant höher ist (1 % Niveau) als die durch Aeszin allein.

Abb. 10: EPL-I und Cholesterin

10 Min. a:	34,06	
c:	19,42	14,64
20 Min. a:	38,00	
c:	21,28	16,72
30 Min. a:	40,68	
c:	22,54	18,14

Bei EPL-I und Cholesterin finden wir im Gegensatz zu cholesterinfreiem EPL-I eine signifikante Serumabhängigkeit der Hämolyse (1 % Niveau). Weiterhin ist die Hämolyse

deutlich geringer als die durch Aeszin allein ausgelöste Hämolyse. Die Differenz ist jedoch nicht signifikant.

Vergleich: ohne EPL-I und ohne Cholesterin - mit EPL-I und Cholesterin.

10 Min.	a: 44,96		c: 31,86	
	a: 34,06	10,90	c: 19,42	12,44
20 Min.	a: 49,16		c: 33,76	
	a: 38,00	11,16	c: 21,28	12,48
30 Min.	a: 52,26		c: 36,00	
	a: 40,68	11,58	c: 22,54	13,46

Abb. 9a und 9b

Prüfung ob auf 56°C erwärmtes Serum gegenüber Nativserum einen Einfluß auf die Hämolyse hat.

10 Min.	a: 64,43		c: 37,10	
	a: 60,87	3,56	c: 39,90	2,80
20 Min.	a: 67,87		c: 43,30	
	a: 68,47	0,60	c: 45,93	2,63
30 Min.	a: 72,83		c: 46,97	
	a: 73,73	0,90	c: 50,13	3,16

Bei 56°C inaktiviertes Serum hat keinen statistisch signifikanten Einfluß auf das Ausmaß der Hämolyse gegenüber Nativserum.

X. Literatur.

1. Barbey, K.: Einfluß venenaktiver Stoffe auf
 die Orthostase - Frühregulation.
Med. Welt 20 (NF.) (1969) 142
2. Bube, F.W.: Über die Beeinflussung der Hämolyse
 menschlicher Erythrozyten.
Fortschritte der Medizin 88 (1970)
Nr. 10, 443-444
3. Dodge, J.T.,
 C. Mitchell,
 D.J.Hanahan: The preparation and chemical
 characteristics of hemoglobin-free
 ghosts of human erythrocytes.
Arch. Biochem. and Biophys. 100
(1963) 119
4. EPL-Natter- Zelle - Gefäße - Alter - Leber.
 mann: Köln.
5. Evelyn, K.A.,
 H.T. Malloy: In:Klinische Chemie.
 R. Richterich
 Akadem. Verlagsgesellschaft,
 Ffm. 1965, S. 291
6. Kiese, M.: Pharmakologische Wirkungen von
 Phospholipiden, in:
 G. Schettler: Phospholipide
 Thieme Verl. Stuttgart, 1972
7. Kobert, T.: Die Saponingruppe, in:
 Handbuch der experimentellen
 Pharmakologie.
 2. Band, 1476
 Springer Verlag Berlin. Göttingen,
 Heidelberg 1924
8. Lorenz, D.,
 M.L. Marek: Das therapeutisch wirksame Prinzip
 der Rosskastanie.
 Arzneimittel Forschung 10 (1960)
 263

9. Maubach, P.: Zur Geschwindigkeit des venösen Rückstroms aus der unteren Extremität bei Gesunden und Venenkranken.
Dissertation, Giessen 1972
10. Munder, P.G.,
E.Ferber,
H.Fischer: Lysophosphatide und Zellmembran.
Untersuchungen über die Abhängigkeit der cytolytischen Wirkung des Lysolecithin von Membranenzymen.
Information exchange, group No. 5 (1965)
11. Oda, T.: Role of Phospholipids in the Structure and Function of Biological Membranes, in: Phospholipide in Biochemie, Experiment und Klinik.
Thieme Verlag Stuttgart, 1972
12. Piper, W.,
M.D.Bladen,
M.Zöller: Adaption of Human Erythrocytes to Lysolecithin, in: Phospholipide.
Thieme Verlag Stuttgart, 1972
13. Pohl, A.,
K.Moser: Erythrozytenphospholipide, in: Stoffwechsel und Membranpermeabilität von Erythrozyten und Thrombozyten, S. 357.
I. Internationales Symposium, Wien 1968
Thieme Verlag Stuttgart.
14. Pohl, A.,
K.Moser: Der Einfluß herzwirksamer Pharmaka auf Membranstoffwechsel und -permeabilität, in: Membranfunktion.
6. Deidesheimer Gespräch, 1972 (Knoll)

15. Polonovski, J.: Metabolism of Phospholipids in the Blood, in: Phospholipide. Thieme Verlag Stuttgart, 1972
16. Preziosi, P., P. Manca: Die Antioedem und antiinflammatorische Wirkung von Aeszin und ihre Beziehung zur Hypophysen - Nebennieren Achse. Arzneimittel Forschung (Drug Res.) 15 (1965) 404
17. Rapoport, S.M.: Medizinische Biochemie. 5. Auflage Verlag Volk und Gesundheit Berlin 1969
18. Schettler, G.: Phospholipide. Thieme Verlag Stuttgart, 1972
19. Seeman, P.: Membrane Stabilization and Expansion by Drugs, in: Stoffwechsel und Membranpermeabilität von Erythrozyten und Thrombozyten, S 384 I. Internationales Symposium, Wien 1968 Thieme Verlag Stuttgart
20. Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie. 2. Überarbeitete und erweiterte Auflage, S. 157 Thieme Verlag Stuttgart, 1973
21. Siering, H.: Die Permeabilität von Zellmembran für Ionen unter dem Einfluß von Aeszin. Arzneimittel Forschung (Drug Res.) 12 (1962) 376

22. Tzonos, T.,
H.Riebeling: Die Aeszin-Wirkung auf das experi-
mentelle Hirnoedem der Ratte.
Arzneimittel Forschung (Drug Res.)
18 (1968) 225
23. Vogel, G.,
M.L.Marek: Zur biologischen Charakterisierung
von Saponinen auf Grund ihres Ver-
haltens gegenüber roten Blutzellen
unter verschiedenen Bedingungen.
Arzneimittel Forschung 5 (1963) 387
24. Vogel, G.,
M.L.Marek: Zur Pharmakologie einiger Saponine.
Arzneimittel Forschung 12 (1962) 813
25. Wagener, H.: Preparation, Distribution and
Turnover of Tritium-Labeled
"Essential" Phospholipids, in:
Phospholipide.
Thieme Verlag Stuttgart, 1972
26. Wagner, J.: Verfahren zur Erzeugung von Krypto-
aeszin oder von stabilen Lösungen,
insbesondere wässrigen Lösungen, die
neben Kryptoaeszin α -Aeszin enthal-
ten und Umwandlungen der drei
Isomeren ineinander.
Offenlegungsschrift 1924710
Aktz. P 1924710.0
27. Wende, S.: Das radiologisch ausgelöste Hirnoedem
und seine Verhütung.
Fortschr. Röntgenstr. 98 (1963) 589
28. Wörner, W.,
H.Martin,
H.Jungbluth: Nachweis geringer Hämolysen mit Hilfe
der Laktatdehydrogenase - Isoenzyme.
Med. Klinik 60 (1965) 496-498
29. Wulff, G.,
R.Tschesche: Über die Struktur der Roßkastanien-
Saponine (Aeszin) und die Aglykone
verwandter Glykoside.
Tetrahedron 25 (1969) 415
30. Nattermann: Mündliche Mitteilung Dr. Genthe.

Lebenslauf.

Als Tochter des Arztes Dr.med.Friedrich Entress und seiner Frau Else, geb. Kroll, wurde ich am 2. April 1942 in Posen geboren.

Nach vierjähriger Grundschule in Naunheim/Wetzlar Besuch des Realgymnasiums in Wetzlar und Gießen bis zum Einjährigen 1959, an das sich ein Jahr Höhere Handelsschule anschloß.

Von 1960 bis 1962 Ausbildung zur med.-techn. Assistentin in Gießen. Nach dem Staatsexamen 1962 und der halbjährigen Praktikantinnenzeit Einstellung in der Medizinischen Universitätsklinik, Gießen.

Ab 1965 neben der Berufsausübung Besuch des Abendgymnasiums. Abitur am 9. September 1968.

Mit dem WS 1968/69 begann ich das Medizinstudium in Gießen. Vorphysikum im SS 1969, Physikum ein Jahr später im SS 1970.

Am 21. Dezember 1973 beendete ich mit dem Staatsexamen das Studium der Medizin.

Herrn Prof. Dr.med. Wörner danke ich für
Themenstellung und Förderung.

Dem Leiter der hämatologischen Abteilung gilt
mein Dank für die Überlassung eines Arbeits-
platzes.

Herrn Diplom-Mathematiker Höbel darf ich für
seinen Rat bei statistischen Fragestellungen
und Problemen danken.

